Aus der I. Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses Berlin-Neukölln
(Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Holldack)
und aus dem Institut für Hämatologie der GSF,
Assoziation mit EURATOM München
(Leiter: Priv. Doz. S. Thierfelder)

Kernmessungen an Phytohämagglutinin - Kulturen

Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnarzt Jönasson, Jón
aus Reykjavik

1973

Aus der I. Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses Berlin-Neukölln
(Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. K. Holldack)
und aus dem Institut für Hämatologie der GSF,
Assoziation mit EURATOM München
(Leiter: Priv. Doz. S. Thierfelder)

Kernmessungen an Phytohämagglutinin - Kulturen

Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnarzt Jónasson, Jón
aus Reykjavik

Referent: Frau Prof. Dr. med. Irene Boll

Korreferent: Prof. Dr. med. dent. Baldur Kempfle

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 5. Dez. 1973

Druck: Der Präsident der Freien Universität Berlin – Zentrale Universitätsdruckerei V aA 7, 1 Berlin 41

Meiner Tochter

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552709_0020

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	Seite 1
Material und Methodik	Seite 8
Ergebnisse	Seite 15
Zusammenfassung der Ergebnisse	Seite 48
Diskussion	Seite 52
Zusammenfassung	Seite 61
Anhang	Seite 63
Literaturverzeichnis	Seite 79

Einleitung

Der Ablauf der Erythrozytopoese und der Granulozytopoese ist in den letzten Jahren weitgehend aufgeklärt worden.

In der Lymphozytopoese lagen die Meinungen etwas auseinander, bis das von STILLMARK im Jahre 1887/88 entdeckte Phytohämagglutinin für mehr Klarheit sorgte.
Zuvor waren die meisten Wissenschaftler davon überzeugt, daß der Lymphozyt eine Endzelle seiner Zellreihe und zu keiner weiteren Entwicklung fähig sei.

Der besonders durch das Phytohämagglutinin erbrachte Beweis, daß der Lymphozyt als eine weitgehend undifferenzierte Zelle zur Evolution fähig ist ("Blastogenese" nach ROBBINS (33)), unterstützt die von MAXIMOW (1909) vertretene Auffassung, daß kleine Lymphozyten mit Sicherheit in "Makrolymphozyten" übergehen können (30).
Ein Überblick über die Resultate der Untersuchungen mit Phytohämagglutinin geben die Veröffentlichungen von GROPP und FISCHER (1966), LENNERT (1966) und AMBS (1969). Hier soll nur kurz auf die wichtigsten Ergebnisse eingegangen werden:

Unter dem Einfluß von Phytohämagglutinin (PHA), einem heterogenen Extrakt der grünen Gartenbohne, phaseolus vulgaris, werden in Kultur 70-90 % aller vorhandenen Lymphozyten in große, basophile Zellen umgewandelt. AMBS (1) beschreibt: "Zu Beginn der Kultur besitzen die Lymphozyten das typische Aussehen von Zellen aus dem peripheren Blut mit dunkelgefärbten Kernen ohne Nukleoli und einem schmalen Rand von blaßblauem, nicht granuliertem Zytoplasma. Die wenigen, großen

Lymphozyten weisen Degenerationserscheinungen auf und gehen bald zugrunde. Früh zeigen einige kleine Lymphozyten Einkerbungen des Kerns, und bis zur 20. Std. haben sich in einigen Zellen Nukleoli gebildet. Zwischen der 26. und 72. Std. werden dann große, mononukleäre Zellen zahlreicher. Aus den kleinen Lymphozyten entwickeln sich Zellen mit immer größerem Kerndiameter und breiterem Zytoplasma. Die Zelldiameter können dabei 2- bis 3mal so groß werden. Die Kerne sind rund bis oval, die Chromatinstruktur lockert sich auf, und es entwickeln sich häufig mehrere, prominente, auffallend große Nukleoli. Gleichzeitig wird das Zytoplasma basophiler und weist oft zahlreiche Vakuolen auf. Der Häufigkeitsgipfel dieser blastenartigen Zellen liegt zwischen der 48. und 72. Std. Am Ende dieser Periode beträgt der Anteil der typischen, kleinen Lymphozyten nur etwa 10 % an der gesamten Zellzahl in der Kultur".

Die Veränderungen, die die RNS- und DNS-Synthese während dieser Vorgänge zeigen, haben QUAGLINO und HAYHOE durch autoradiographische Untersuchungen studiert (26). Danach zeigen die typischen, kleinen Lymphozyten keine DNS-Synthese, die sich aber, ebenso die RNS-Synthese, mit der Stimulierungsdauer steigert, um dann in den großen Immunoblasten in starkem Maße vorhanden zu sein.
Die Entstehung dieser basophilen Zellen aus den Lymphozyten scheint gesichert (7, 18).
Phytohämagglutinin ist nicht der einzige Stoff, der die Stimulierung bei den Lymphozyten hervorrufen kann.

AMBS (1) unterscheidet zwei Arten von Stimulierungen: Auf der einen Seite die unspezifische Stimulierung, zu der neben Phytohämagglutinin auch z. B. Proteine aus Phytolacca americana, Vicia faba, Robina pseudoacacia, ferner Streptolysin S, Staphylokokkenexotoxin und Quecksilber-II-chlorid zählen, auf der anderen Seite die spezifische Stimulierung, die nur möglich ist, wenn der Patient für die entsprechenden Agentien eine bestimmte Vorgeschichte aufweist, sich also mit dem entsprechenden Antigen auseinandergesetzt hat. Genannt seien hier Tuberkulin, Keuchhustenvaccine, Di- und Tetanustoxoid, Streptolysin O, u. a.

Auf die Hemmung der Phytohämagglutinin-Stimulierung der Blutlymphozyten soll hier nicht eingegangen werden.
Die blastenartigen, in Kultur entstehenden Zellen werden mehrmals in der Literatur mit im Organismus vorkommenden Zellen verglichen. GROPP und FISCHER meinen, daß sie denen von KLIMA gekennzeichneten, lymphatischen und lymphoblastischen Reaktionsformen im Blut entsprechen (19).

MOVAT und FERNANDO (31)beschreiben die pyroninophilen Immunoblasten in Milz und Lymphknoten von Kaninchen nach primärer und sekundärer, antigener Stimulation, LENNERT die sogenannten, basophilen Stammzellen im Lymphknoten, Vorstufen der lymphatischen Plasmazellen (26, 27).

LENNERT (26) schreibt zu diesem Thema: "Die Phytozelle ist vollkommen isomorph mit einer Zelle, die wir als basophile Stammzelle bezeichnet haben. Und zwar haben sowohl elektronenmikroskopische wie Untersuchungen im Lichtmikroskop bei

Pappenheimfärbung die vollkommen übereinstimmende Morphologie ergeben. Es fragt sich aber, ob man aus Isomorphie auf gleiche Entstehung, nämlich aus Lymphozyten, schließen darf. Tatsächlich konnten GOWANS und Mitarbeiter (16, 17) bei Graft-versus-host-reaktionen überzeugend nachweisen, daß auch in vivo basophile Stammzellen aus Lymphozyten gebildet werden".

Die letzte Frage wäre, ob die blastenartige, basophile Zelle, die wir nach DAMESHEK (13) als Immunoblasten bezeichnen wollen, eine Endzelle ist oder ob sie Tochterzellen hervorbringen kann.

GROPP und FISCHER (18) meinen: "Nach dem 5.-7. Züchtungstag gehen diese Zellen zugrunde".

LENNERT (26) äußert sich folgendermaßen dazu: "In vitro war eine Weiterentwicklung trotz Züchtung über mehrere Wochen nicht zu induzieren: die Blasten blieben morphologisch bis zum Versuchsende vollkommen gleich. So besteht nur die Möglichkeit, die Erfahrungen im Tierexperiment und in der menschlichen Pathologie zu überprüfen, ob Hinweise auf eine Bildung von andersartigen Zellen aus den Blasten vorliegen. Zellen vom Aussehen der Phyto-Zellen (Makrolymphozyten, Hämozytoblasten, basophile Stammzellen) können sich nach unseren heutigen Kenntnissen offenbar in Lymphozyten und Plasmazellen weiterentwickeln".

AMBS (1) schreibt: "Wahrscheinlich können sich die "Blasten" auch wieder zu kleinen Lymphozyten teilen".

BOLL, KRETSCHMAR und FLIEDNER (8) berichten von der Entstehung von zwei morphologisch phasenoptisch als Lymphozyten

imponierenden vitalen Zellen aus den durch Phytohämagglutinin induzierten Blasten am 3. Tag nach Ansetzen der Blutkultur.
MARSHALL und ROBERTS (29) sehen auch, sowie TSUTSUI (36), ELVES und WILKINSON (14) und COOPER (12), Lymphozyten aus Immunoblasten entstehen.
Zu der Aufklärungsarbeit auf dem Gebiet der verschiedenen Zellsysteme haben die Zyto- und Karyometrie bedeutsame Ergebnisse geliefert. Ein entscheidendes Problem springt beim Studium der Literatur ins Auge und zwar die verschiedenen Meinungen darüber, mit welchen Methoden die Präparate hergestellt werden sollen. Einerseits stehen Autoren, die die Ausstrichtechnik befürworten, auf der anderen Seite Autoren, die die Schnittechnik für besser halten.

BODENSTEIN, LENNERT und REMMELE, PIECHL und RUHRMANN (5, 28, 32, 34) geben an, daß bei der Ausstrichtechnik die Zellen und ihre Kerne flach auf dem Objektträger liegen und damit einen größeren Durchmesser vortäuschen.
BOLL (7) meint dazu: "Die Zelle erscheint durch die flache Ausbreitung an der Glasoberfläche planimetrisch noch stärker vergrößert als ihrem tatsächlichem Volumen entspricht".

Zu der Schnittechnik schreibt GEBAUER (15) folgendes:
"Der Vorteil der Schnitt- gegenüber den Ausstrichpräparaten liegt in der natürlichen Lagerung der Zellen innerhalb ihres Verbandes. Ein Nachteil besteht in der Schrumpfung der Zellkerne durch die Fixierung. Außerdem ist es bei einer Schnittdicke von weniger als der Kerndurchmessergröße möglich, daß nur Kernabschnitte gemessen werden. Man erhält somit zu kleine Werte."

BOLL (6) teilt diese Meinung, indem sie schreibt: "Im histologischen Schnitt des roten Knochenmarks lassen sich die einzelnen myelopoetischen Vorstufen wegen der Zellpyknose bei der Fixierung und Einbettung schlecht differenzieren. Bei der Differenzierung der granulopoetischen Vorstufen sind wir daher auf das panoptisch gefärbte Ausstrichpräparat angewiesen".

Da aus der Phytohämagglutinin-Kultur histologische Präparate schwer, Ausstriche aber leicht herzustellen sind, haben wir, sowie aus den oben besprochenen Gründen, die Ausstrichtechnik gewählt.

Über Zellkernmessungen an Phytohämagglutinin-stimulierten Zellen ist bisher nicht viel berichtet worden. Die in der Literatur zu findenden Angaben sind in der auf Seite 7 stehenden Tabelle 1 zusammengefaßt.

Wir stellen uns nun die Aufgabe in Ausstrichpräparaten von Phytohämagglutinin-Kulturen:

1. die Kerngrößen bis zur 240. Std. zu messen,
2. damit die Angaben von AMBS, KNIGHT, TSUTSUI, MARSHALL, YOFFEY und CHESSIN über Immunoblastenumwandlung nachzuprüfen und
3. durch die Verlängerung der Kulturdauer über einen längeren Zeitraum festzustellen, ob die Immunoblasten weiter wachsen oder durch Teilung wieder zu kleineren Zellen werden.

Autoren	Ø	Stimulant		0 Std.	12 Std.	24 Std.	36 Std.	48 Std.	72 Std.	96 Std.	120 Std.	168 Std.	192 Std.
AMBS	Kern	PHA	Normal	8,66		6,56		10,09	11,7				
			Normal	8,53		7,18		10,87	11,64				
			Normal	8,41		7,24		11,44	13,47				
			CLL	10,27		9,53		10,23	9,51				
			CLL	8,51		8,99		9,49	9,29				
KNIGHT	Kern	SF	Normal			5-7 (6)		5-8 (7)	5-9 (7)	4-10 (8)	4-12(5-6)		
			Kaninchen			5-7 (7)		5-7 (6)	4-7 (6)	5-10 (8)	4-8 (6)		
TSUTSUI	Zelle	PHA	Normal		10-11	10-11 und 15	20	20-30	20-30 und 12-15	20 und 8-13		8-13, 10-15 und 20	10
MARSHALL	Zelle	PHA	Normal	6,3-6,8			13-18		12	13-18			
YOFFEY+)	Zelle	PHA	Normal	7,5				12 und 15-30					
CHESSIN	Zelle	PWM	Normal	95-97 %: 7-10 3- 4 %: 10-12 1 %: 12-15		kleine PWM-Zellen: 8-15 große PWM-Zellen: 25-30							

Alle Größenangaben in /u

PHA = Phytohämagglutinin
SF = Staphylokokken-Filtrat
PWM = "Pokeweed Mitogen"

Tabelle 1: (2, 11, 23, 29, 36, 37)

+) Die Angaben von Yoffey beruhen nicht auf konkreten Messungen, sondern auf einer optischen Schätzung.

Material und Methodik

Die Kernmessungen wurden in Präparaten von 5 Patienten durchgeführt, wovon 3 als "fast normal" aufgefaßt wurden und 2 an chronischer, lymphatischer Leukämie (CLL) krank waren.
Die Präparate wurden nach der von BOLL (1970) angegebenen, inzwischen etwas modifizierten Methode hergestellt: Das Venenblut wird vom Patienten in einer mit Heparin (Liquemine-Originallösung) befeuchteten 20-ml-Spritze abgenommen und sofort ein Blutausstrich auf Objektträger ausgestrichen. Nach Trocknung wird er nach PAPPENHEIM gefärbt.

Das heparinisierte Venenblut wird in einem 50-ml-Röhrchen für einige Stunden bei 37° C aufbewahrt. Das dann überstehende Plasma wird abpipettiert und auf 2-3000 Leukozyten/µl Kulturmedium eingestellt. Das leukozytenhaltige Plasma wird mit TC-Medium-Eagle-Lösung auf 10 ml aufgefüllt, mit 2 Tropfen Phytohämagglutinin P der Fa. Difco und 5 Tropfen einer 0,9 %igen Kochsalzlösung (2 mg Binotal und 400 µg/ml Streptothenat) versetzt.

Dieser Kulturansatz wird in 25-ml-Kölbchen gegeben, um eine möglichst große Gasphase über der Flüssigkeitskultur zu erhalten, und bei 37° C im Brutschrank inkubiert.
Entsprechend den vorgegebenen Zeitabständen werden der Kultur Proben entnommen und bei 1920 g 10 Min. lang zentrifugiert. Vom Sediment wird ein Ausstrich angefertigt und nach Trocknung nach PAPPENHEIM gefärbt.

Da die einzelnen Präparate verschiedene Qualität aufwiesen,

haben wir jeweils die besseren ausgewertet. So wurden 8300 Zellen ausgezählt und davon 7500 Zellen ausgemessen.

Beim Ausmessen bevorzugten wir im O-Std.-Präparat quer durch die Mitte des Präparates zu fahren, wobei Zellen in Rand- und Mittelpartien zur Ansicht kamen und bei den Kulturpräparaten die Randgebiete, da dort die Zellen lockerer liegen als in der Mitte, wo wir nur pyknotisch gefärbte, undifferenzierbare Zellen finden. Dabei wurden nicht nur runde, sondern auch elipsoide Kerne ausgemessen, wobei das Mittel zwischen dem größten und dem kleinsten Durchmesser errechnet wurde. Das gibt, wie das folgende Beispiel zeigt, einen durchaus vertretbaren Fehler von ca. 0,5-4,5 %:

Runder 8 µ-Kern: $F_{Ring} = \pi \times r^2 = \pi \times 16 = 50{,}3\ \mu^2$.

Elipsoider Kern: D = 9 µ und d = 7 µ:

$$F_{Elipse} = \frac{D \times d \times \pi}{4} = \frac{63 \times \pi}{4} = 49{,}5\ \mu^2.$$

Wenn dieser Kern als ein runder 8 µ-Kern bewertet wird, beträgt der Fehler 1,6 %.

Bei kleineren Zellkernen vergrößert sich der Fehler bis auf 4,5 %, bei größeren Zellkernen verkleinert er sich bis auf 0,5 %.

Zur Ausmessung haben wir die direkte Methode am Mikroskop ausgewählt, da sie einfacher und nicht so zeitraubend ist wie die indirekte Methode anhand von Photographien.

Die Messung der Zellkerne erfolgte mit Hilfe eines Licht-

mikroskops (ZEISS) durch ein Kpl-Okular (ZEISS, 12,5 x) und ein Ölimmersionsobjektiv (ZEISS, 100 x). Die Eichung des Okularmikrometers (ZEISS) mit dem Objektmikrometer (LEITZ) ergab folgendes:

100 Teilstriche des Okularmikrometers =
10 Teilstriche des Objektmikrometers, d. h.

1 Teilstrich des Okularmikrometers entspricht 1 µ. So erhielten wir Meßgrößen in Abständen von 1 µ. Gemessen wurden auch interpolierte Zwischenwerte in Abstand 0,5 µ, aber nachher nicht dargestellt.

Es wurden 1. Summenkurven, d. h. die Größenverteilung aller Kerne einer bestimmten Stichprobe aufgezeichnet und 2. Diagramme von Zellen bestimmter morphologischer Kriterien angefertigt.

Es wurden folgende Zellen differenziert:

Neutrophiler stabkerniger Granulozyt:

Der Kern ist langgezogen und hufeisenförmig gebogen. Seine Struktur ist dicht, oft schon pyknotisch. Das Protoplasma ist leicht oxyphil mit neutrophilen Granula.

Die neutrophilen stabkernigen Granulozyten wurden unter die Gruppe der neutrophilen segmentkernigen Granulozyten eingeteilt.

Neutrophiler segmentkerniger Granulozyt:

Der segmentierte Granulozyt unterscheidet sich vom stabkernigen Granulozyten durch den in meist 4 Segmente unterteilten Kern. Die Segmente sind durch dünne Fäden miteinander ver-

bunden. Mindestens besteht eine Verdünnung des Kerns auf 1/3 an einer Stelle. Das Protoplasma ist wie beim stabkernigen Granulozyten.

Basophiler segmentkerniger Granulozyt:
Die basophilen, groben Granula bedecken meist sehr dicht den zweisegmentierten Kern und das Protoplasma.

Eosinophiler segmentkerniger Granulozyt:
Meist sind nur zwei, selten drei Segmente vorhanden. Eosinophile Granula breiten sich über die ganze Zelle aus.

Promonozyt: Sein größerer, runder oder ovaler Kern mit der zarten, lockeren Chromatinstruktur liegt meist zentral vom rauchgrauen, nicht granulierten Protoplasma umgeben.

Monozyt: Sein heller Kern kann sich in verschiedenen Formen darbieten: eingebuchtet, gelappt oder stabförmig. Sein Chromatin zeigt eine zarte, lockere Struktur. Das Protoplasma ist rauchgrau gefärbt und manchmal fein azurophil granuliert.

Lymphoidzelle: Es werden zwei Arten von Lymphoidzellen unterschieden: Einmal die hellen, großen bzw. kleinen Lymphoidzellen mit einer lockeren, fast schwammartig porösen Kernstruktur, 3-6 Nukleoli und relativ viel, hellem, schwach basophilem, zerfließlichem und zum Teil vakuolisiertem Protoplasma.

Zum anderen finden sich stark basophile, große bzw. kleine Lymphoidzellen mit dichterer Kernstruktur und relativ breitem Protoplasma. Während die großen Lymphoidzellen große Nukleoli besitzen, stellt sich der Kern der kleinen lymphozytähnlich, kompakt und meist ohne Nukleolus dar.

Die herausgestellten Formen sind jedoch nur immer wieder anzutreffende Häufungen innerhalb von Zellreihen mit allen Übergängen und Zwischenformen.

Diese zwei Arten wurden beide gemeinsam als Lymphoidzellen differenziert.

Lymphozyt: Der dunkle, rotviolette Kern des Lymphozyten ist rund, seltener oval oder eingebuchtet. Er ist schollig strukturiert. Das hellblaue Protoplasma umgibt ihn nicht immer vollständig und kann manchmal nur in sehr spärlichen Resten vorhanden sein.

Virozyt: Als Virozyt werden alle Lymphozyten, die azurophile Granula im Protoplasma aufweisen, bezeichnet.

In den Kurven wurden die Lymphozyten zu den Virozyten addiert.

Stimulierter Lymphozyt:

Im Vergleich zum Lymphozyten ist sowohl der Kern als auch das Protoplasma größer und letzteres dunkelbasophiler. Der Kern ist dunkler violett, enthält 2-3 dichtere Nukloli und kann

verschiedene Formen annehmen: rund, länglich und oval. Das Protoplasma umgibt den Kern nicht immer an allen Seiten.

Immunoblast:

kleine: Der Kern ist dunkelviolett und schollig strukturiert. Er liegt exzentrisch im dunkelblauen Protoplasma und weist deutlich erkennbare Nukleoli auf.

große: Im Vergleich zu den kleinen Immunoblasten ist der Kern größer, lockerer netzig strukturiert, heller und kann verschiedene ovale Formen annehmen, er enthält auch Nukleoli. Das Protoplasma wird ausgebreiteter und hell- bis dunkelbasophil. Die Oberfläche kann gezähnt sein. Relativ oft finden sich eine oder mehrere kleine bzw. große Vakuolen im Protoplasma.
Die nicht vakuolisierten und vakuolisierten Immunoblasten sind in den Kurven getrennt dargestellt, jedoch zueinander addiert.

Retikulumzelle: Die in der Regel runden oder auch ovalen, großen Kerne der Retikulumzellen sind sehr locker netzig strukturiert und weisen meist 2-3 Nukleoli auf. Ihr Protoplasma ist von zart hellblauer oder -rosa Farbe und nach außen oft so undeutlich abgegrenzt, daß die Größe der Zelle nicht zu bestimmen ist. Oft liegen die Kerne nackt da, weil sie beim Ausstreichen vom Protoplasma getrennt werden.
Die Unterscheidung zwischen beschädigten, großen

Immunoblasten und Retikulumzellen fällt oft nicht leicht, da die Kerne der größeren Immunoblasten immer mehr ein retikuläres Aussehen annehmen.

Die Differenzierungsmerkmale wurden nach BOLL, JORKE und von RIESEN/ALBRECHT zusammengestellt.

Der Vergleich zweier Kurven wurde mittels des t-Testes gemacht, und der mittlere Fehler mit folgender Formel ausgerechnet:

$$m = \pm \sqrt{\frac{S(x-\bar{x})^2}{N(N-1)}}, \text{ wo}$$

Sx = Summe der ermittelten Durchmesser,

$S\bar{x}$ = Summe der Mittelwerte und

N = die ausgemessene Zellzahl ist.

Der mittlere Fehler hat eine Wahrscheinlichkeit von 67 % ($\bar{x} \pm 1m$; $\bar{x} \pm 2m$ würde 95 % und $\bar{x} \pm 3m$ 99,77 % geben).

Ein t-Wert unter 2,0 sagt aus, daß zwischen zwei Kurven kein signifikanter Unterschied besteht, so daß sie zusammengeworfen werden können.
Die interpolierten Zwischenwerte wurden jeweils immer zum nächst niedrigeren Wert gerechnet, da die Kurven durch systematischen Meßfehler im Sinne eines Aufrundungseffektes zu viele Gipfel gezeigt hätten.

Alle statistische Auswertungen wurden mit Hilfe des DIEHL-combitron-S-Computers durchgeführt (Tabellen: siehe Anhang).

Ergebnisse

Versuch I: Phytohämagglutinin-Kultur des Venenblutes des Patienten S., 53 Jahre.

Diagnose: Passagäre Thrombozytopenie unklarer Genese.

Laborbefunde:

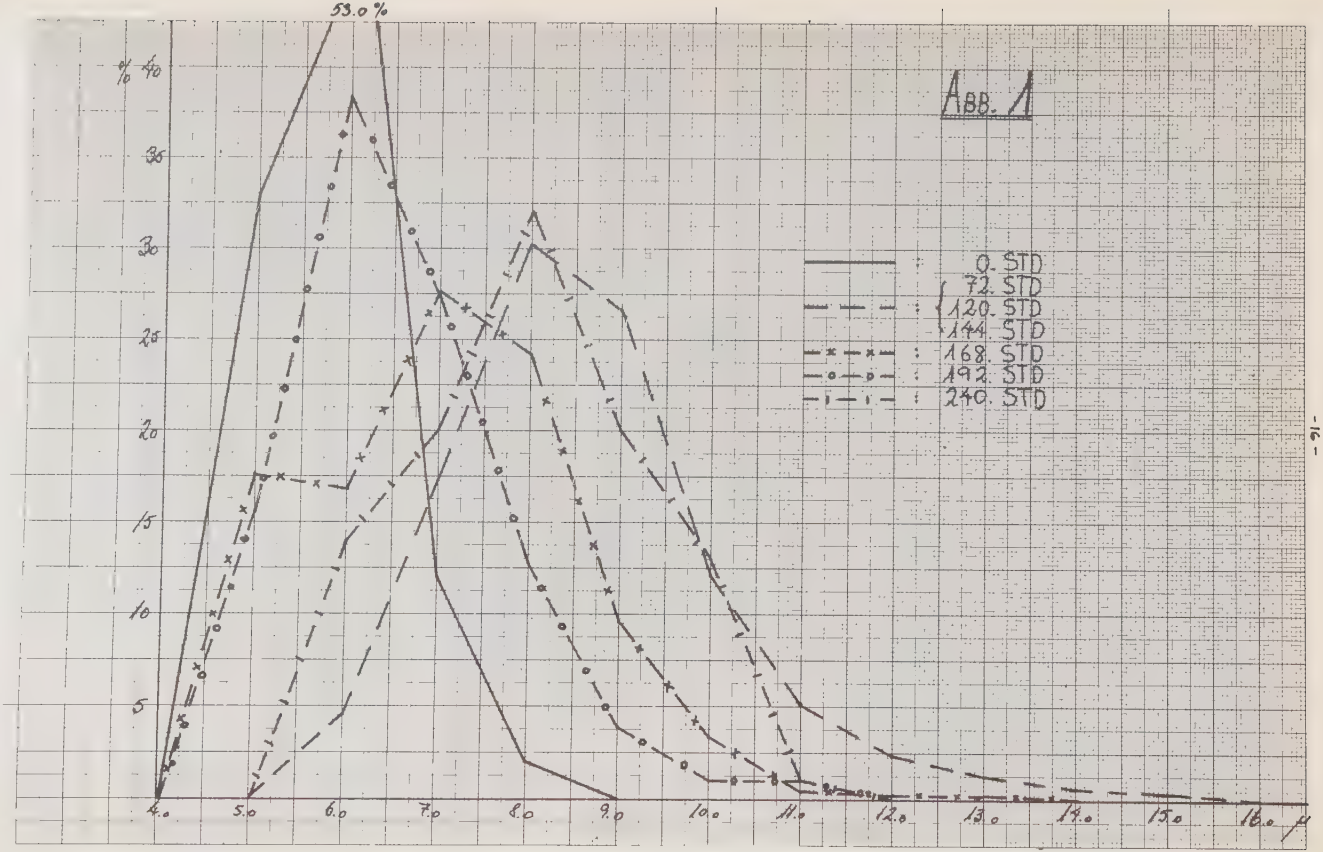
Leukozyten:	6900/µl	Erythrozyten:	4,6 Mill/µl
Stabkernige:	2 %	Hb:	14,8 g%
Segmentkernige:	50 %	HbE:	31,8 pg
Lymphozyten:	46 %	Retikulozyten:	9 ‰
Eosinophile:	2 %	Thrombozyten:	168.000/µl

Erklärung zu den Abbildungen:

Abb. 1: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe.
Nach dem t-Test waren die Kurven der 72.-144. Std. identisch und sind deswegen als Mittelwertskurve zusammengefaßt:
Zwischen der 72. und 120.Std.: t-Wert = 0,33,
zwischen der 120. und 144. Std.: t-Wert = 0,98 und
zwischen der 72. und 144. Std.: t-Wert = 1,34.

Abb. 2: Die verschiedenen, gemessenen Zellarten nach den gegebenen Zeitabständen:

Lymphozyten,
Lymphoidzellen,
Virozyten,
Stimulierte Lymphozyten,
Immunoblasten,
vakuolisierte Immunoblasten und
Retikulumzellen.


53.0 %
%
40
35
30
25
20
15
10
5
4.0
5.0
6.0
7.0
8.0
9.0
10.0
11.0
12.0
13.0
14.0
15.0
16.0 µ
ABB. 1
0. STD
72. STD
120. STD
144. STD
168. STD
192. STD
240. STD

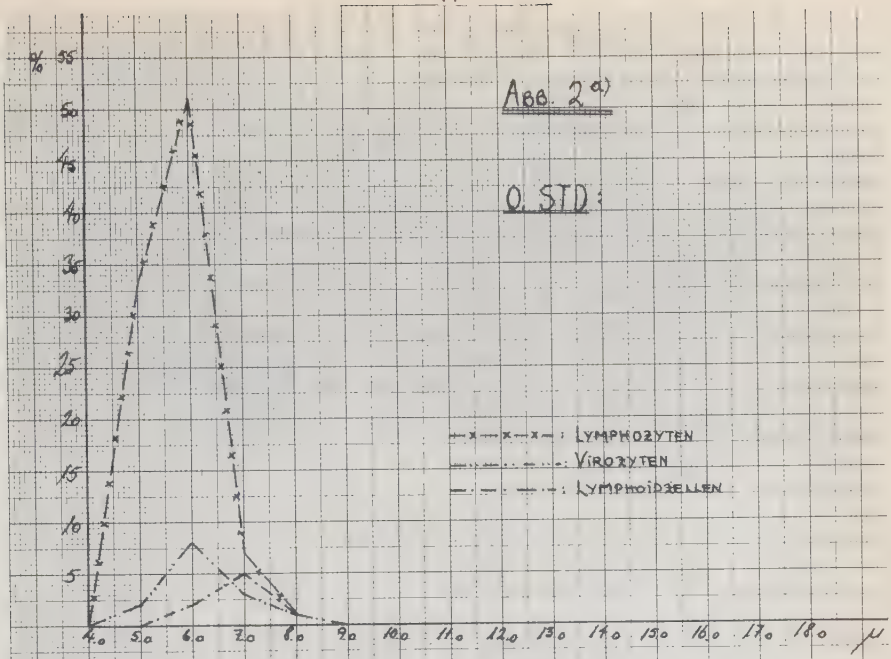


ABB. 24)

0. STD:

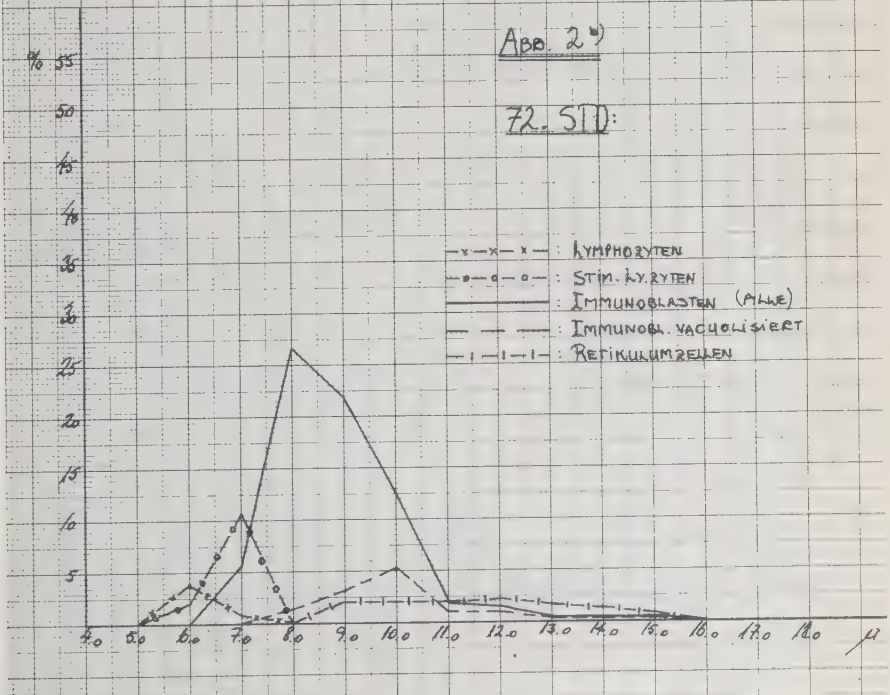


ABB. 24)

72. STD:

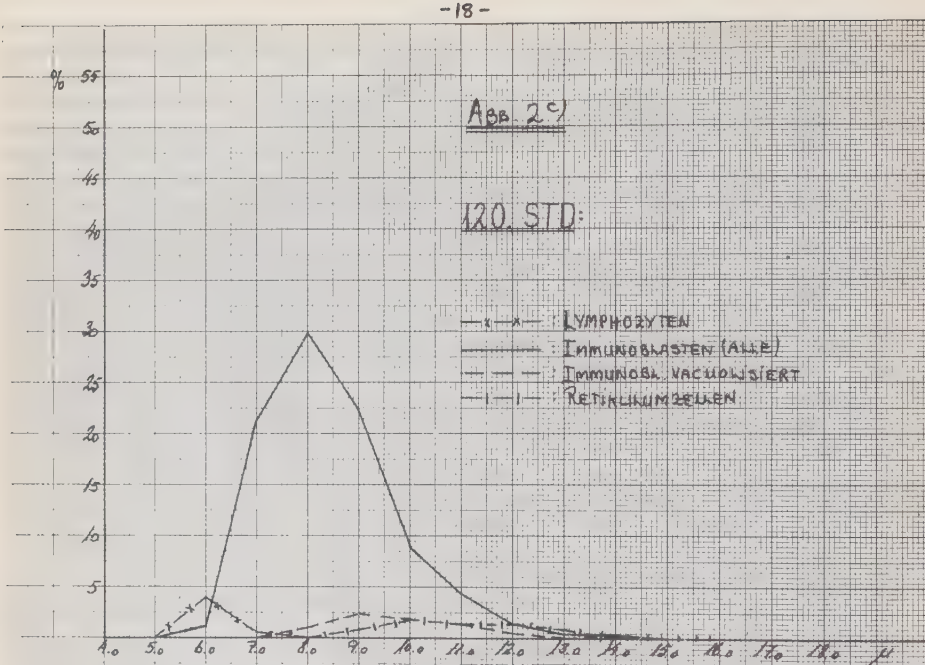


Abb. 2c)
120. STD:
—x—x— : Lymphozyten
———— : Immunoblasten (alle)
— — — : Immunobl. vacuolisiert
—|—|— : Retikulumzellen
%
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
4.0
5.0
6.0
7.0
8.0
9.0
10.0
11.0
12.0
13.0
14.0
15.0
16.0
17.0
18.0
µ

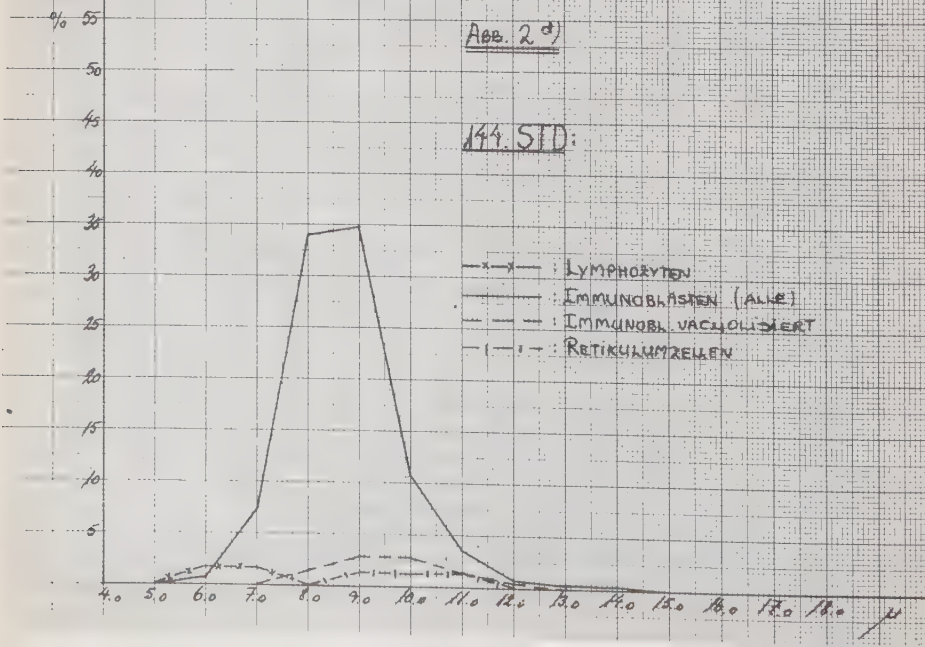
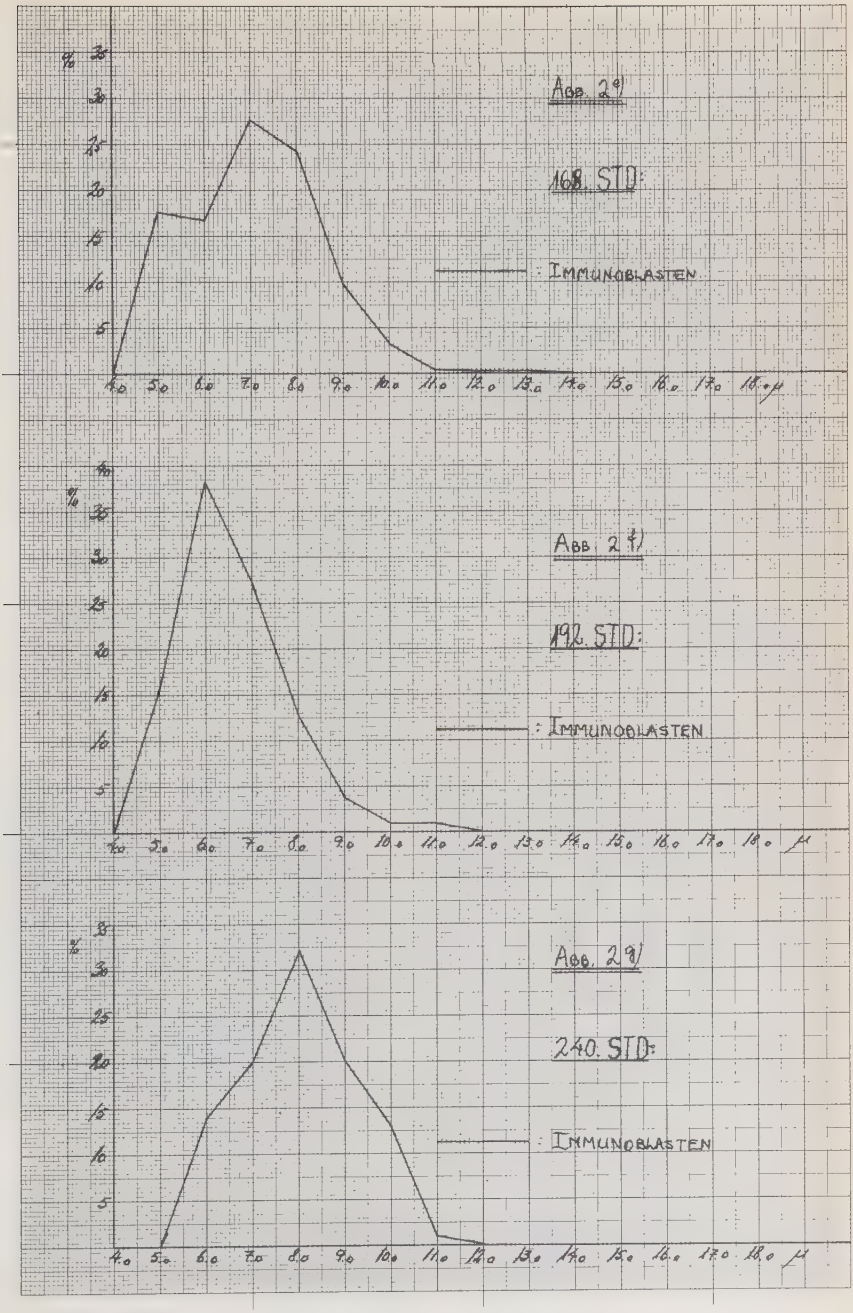


Abb. 2d)
144. STD:
—x—x— : Lymphozyten
———— : Immunoblasten (alle)
— — — : Immunobl. vacuolisiert
—|—|— : Retikulumzellen
%
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
4.0
5.0
6.0
7.0
8.0
9.0
10.0
11.0
12.0
13.0
14.0
15.0
16.0
17.0
18.0
µ


%
35
30
25
20
15
10
5
4.0 5.0 6.0 7.0 8.0 9.0 10.0 11.0 12.0 13.0 14.0 15.0 16.0 17.0 18.0 µ
Abb. 29
168. STD:
: Immunoblasten
%
35
30
25
20
15
10
5
4.0 5.0 6.0 7.0 8.0 9.0 10.0 11.0 12.0 13.0 14.0 15.0 16.0 17.0 18.0 µ
Abb. 29
192. STD:
: Immunoblasten
%
35
30
25
20
15
10
5
4.0 5.0 6.0 7.0 8.0 9.0 10.0 11.0 12.0 13.0 14.0 15.0 16.0 17.0 18.0 µ
Abb. 29
240. STD:
: Immunoblasten

Versuch I:

Die Summenkurven (Abb. 1) zeigen folgendes: Im O-Std.-Präparat finden sich Zellen mit kleinem Kerndurchmesser (5-6µ) in der Mehrzahl. Später vermehren sich Zellen mit größerem Kerndurchmesser (8-9µ) stark. Nach 168 Std. enthält die Kultur wieder Zellen mit kleinerem Kerndurchmesser (5-8µ), die sich in den folgenden 24 Std. weiter vermehren (5-7µ). Nach 240 Std. finden sich dann wieder größere Zellen in der Kultur (6-9µ).

Die Kurven der verschiedenen, gemessenen Zellarten zeigen folgendes: Fast die Hälfte der gemessenen Zellen des O-Std.-Präparates (Abb. 2 a)) sind Lymphozyten mit einem Kerndurchmesser von 6 µ. Zu einem geringen Anteil sind Virozyten (6µ) und Lymphoidzellen (7µ) vorhanden. Im 72-Std.-Präparat (Abb. 2 b)) sieht man eine starke Abnahme des Lymphozytenanteils (ca. 5 %), dafür aber das Auftreten von stimulierten Lymphozyten mit einem Kerndurchmesser von 7 µ und beiden Arten der Immunoblasten, die die Hauptmenge der Zellen in diesem Präparat ausmachen sowie Retikulumzellen. Der Gipfel der Immunoblasten liegt bei 8-9 µ und der der vakuolisierten Immunoblasten bei 10 µ. Die Kurve der Retikulumzellen ist sehr flach und breit, so daß kein Gipfel dargestellt wird. In den Präparaten der 120. Std. (Abb. 2 c)) und 144. Std. (Abb. 2 d)) liegen ähnliche prozentuale Verhältnisse vor wie im 72-Std.-Präparat. Hier sind keine stimulierten Lymphozyten mehr zu finden.

Die Gipfel der einzelnen Zellarten liegen folgendermaßen: Im 120-Std.-Präparat (Abb. 2 c)): Lymphozyten bei 6 µ, Immunoblasten bei 8 µ, vakuolisierte Immunoblasten bei 9-10 µ und

Retikulumzellen bei 10-12 µ. Im 144-Std.-Präparat (Abb. 2 d)): Lymphozyten bei 6-7 µ, Immunoblasten bei 8-9 µ, vakuolisierte Immunoblasten bei 9-10 µ und Retikulumzellen bei 9-11 µ.

In den Präparaten der 168. Std. (Abb. 2 e)), 192. Std. (Abb. 2 f)) und der 240. Std. (Abb. 2 g)) wurden nur Immunoblasten differenziert. Die Kurven zeigen folgende Gipfel: Im 168-Std.-Präparat bei 5 µ und bei 7-8 µ, im 192-Std.-Präparat bei 6 µ und im 240-Std.-Präparat bei 8 µ.

Unter den Zellen dieser drei letzten Präparate erkennen wir zwei verschiedene Arten:

a) kleine Zellen, die den kleinen Lymphozyten im 0-Std.-Präparat sehr ähnlich sind, d. h. mit dunkler, verwaschener Kernstruktur und einem kleinen Plasmasaum. Die ganze Zelle, sowohl der Kern als auch das Protoplasma, erscheint jedoch etwas basophiler (Abb. 3 und 4),

Abb. 3: Versuch I, 0-Std.-Präparat:
Oben: 1 Lymphozyt, Kerndurchmesser 6 µ und 2 Segmentkernige.
unten: 1 Lymphoidzelle mit netziger Kernstruktur und Pinozytose-Fortsätzen des Protoplasmas, Kerndurchmesser: 7,5 µ

(Abb. 3-5 sind Blut- bzw. Kulturausstriche nach PAPPENHEIM gefärbt, LEITZ-Photomat, 95 x Ölimmersion, Agfachrome-50 L-Professional-Diafilm, Farbpositive.)

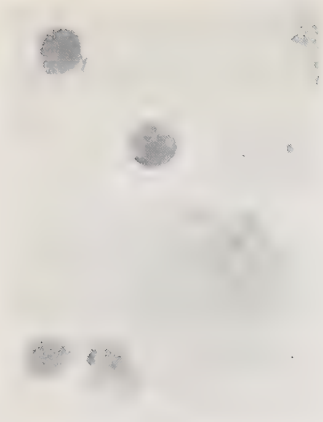


Abb. 4: Versuch I, 192-Std.-Präparat:
3 kleine Zellen (Lymphozyten), Kerndurchmesser 6 µ, eine größere Zelle und ein großer, degenerierender Immunoblast.

b) kleine Zellen, die den großen Immunoblasten ähnlich sehen, d. h. der Kern ist schollig strukturiert und der Zytoplasmasaum ist breiter und stärker basophil (Abb. 5). Die kleinsten Zellen dieser Kern- und Zytoplasmastruktur nennen wir im Gegensatz zu den Lymphozyten mit verwaschener Kernstruktur Immunozyten.

Abb. 5: Versuch I: 192-Std.-Präparat:
Oben: 2 kleine Zellen (Immunozyten), Kerndurchmesser 7 µ.
Unten: Ein kleiner Immunoblast, Kerndurchmesser: ca. 9 µ.

Diese kleinen Zellen haben wir in den Tabellen und Diagrammen ebenso wie die großen als Immunoblasten bezeichnet, da die Morphologie und die Analyse der Kurven der verschiedenen, gemessenen Zellarten zusammen entscheiden sollen, ob es sich tatsächlich um neugebildete Lymphozyten bzw. Immunozyten handelt.

Der Computer rechnete folgende Mittelwerte und mittlere Fehler aus (bei 1 m und 67 % Wahrscheinlichkeit des Mittelwertes):

		Kerndurchmesser
0. Std.:	Lymphozyten:	5,65 ± 0,07 µ,
	Lymphoidzellen:	6,87 ± 0,23 µ und
	Virozyten:	6,21 ± 0,21 µ.
72. Std.:	Lymphozyten:	6,17 ± 0,18 µ,
	stim. Ly.zyten:	6,84 ± 0,10 µ,
	Immunoblasten:	8,55 ± 0,12 µ,
	vak. Immunobl.:	10,07 ± 0,42 µ und
	Retikulumzellen:	11,53 ± 0,52 µ.
120. Std.:	Lymphozyten:	6,11 ± 0,15 µ,
	Immunoblasten:	8,29 ± 0,13 µ,
	vak. Immunobl.:	9,85 ± 0,49 µ und
	Retikulumzellen:	10,97 ± 0,54 µ.
144. Std.:	Lymphozyten:	6,50 ± 0,32 µ,
	Immunoblasten:	8,61 ± 0,11 µ,
	vak. Immunobl.:	9,50 ± 0,34 µ und
	Retikulumzellen:	10,14 ± 0,51 µ.
168. Std.:	Immunoblasten:	7,05 ± 0,14 µ.
192. Std.:	Immunoblasten:	6,58 ± 0,15 µ.
240. Std.:	Immunoblasten:	8,01 ± 0,13 µ.

Daraus rechneten wir folgende Mittelwerte und mittlere Fehler:

Lymphozyten:	6,11 ± 0,18 µ,
Virozyten:	6,21 ± 0,21 µ,
stim. Ly.zyten:	6,84 ± 0,10 µ,
Lymphoidzellen:	6,87 ± 0,23 µ,
Immunoblasten:	8,46 ± 0,12 µ,
vak. Immunobl.:	9,81 ± 0,42 µ und
Retikulumzellen:	10,88 ± 0,52 µ.

Bei den Immunoblasten haben wir die Mittelwerte für die 168. und 192. Std. nicht mitgerechnet, da wir meinen, daß die Zellen dieser Zeiten sich teilende Immunoblasten bzw. neu entstandene Immunozyten darstellen und daher den Mittelwert der Immunoblasten verfälschen würden. Sie würden eher in die Mittelwerte der Lymphozyten hineinpassen.

Versuch II: Phytohämagglutinin-Kultur des Venenblutes der Patientin B., 40 Jahre.

Diagnose: Hochgradiger Verdacht aud Sepsis bei chronischer Pyelonephritis, nekrotisch ulzerierender Tonsillitis li, verbunden mit hämorrhagischer Diathese und partieller Nekrose der 2.-5. Zehe li und der 4. und 5. Zehe re.

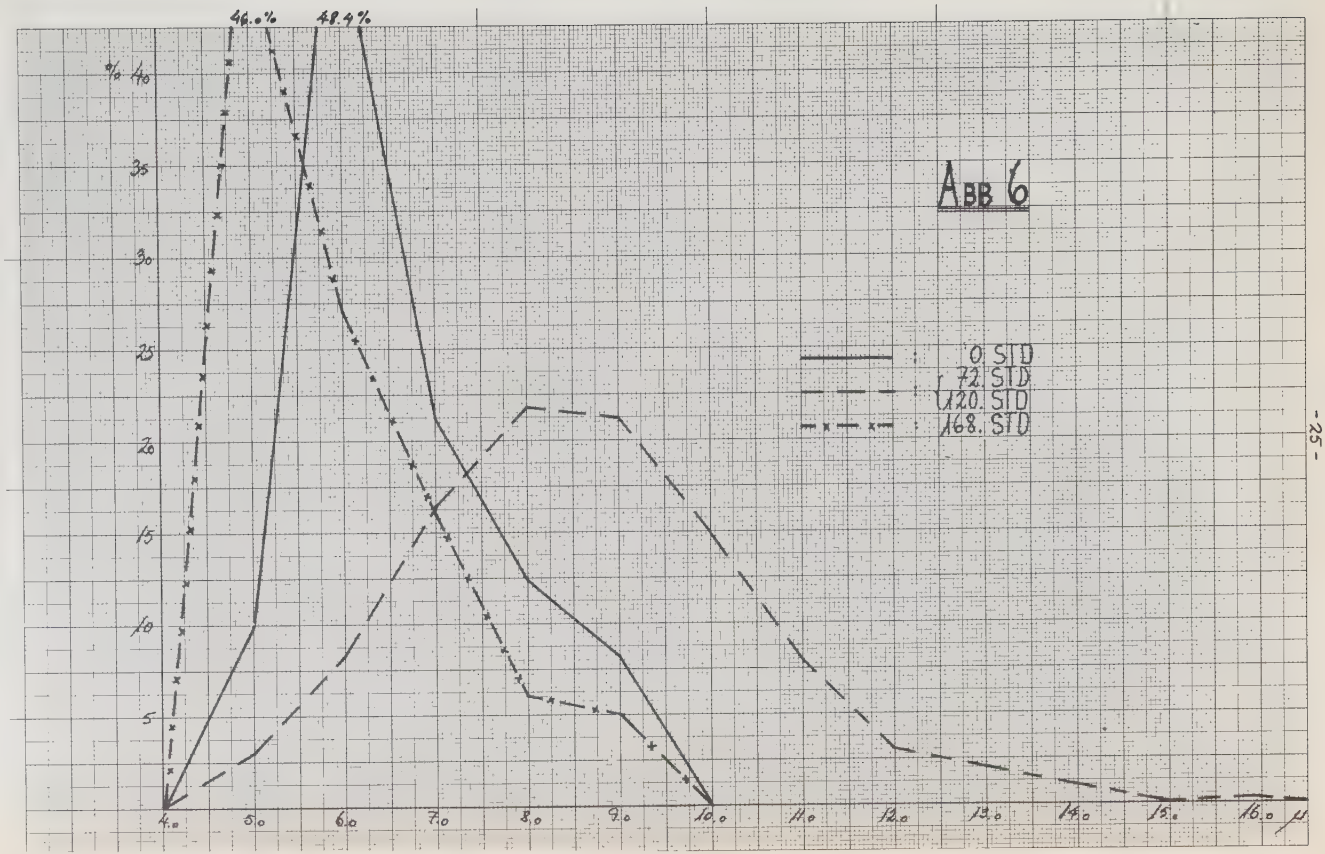
Laborbefunde:

Leukozyten:	8300/µl	Erythrozyten:	3,76 Mill/µl
Stabkernige:	4 %	Hb:	11,6 g%
Segmentkernige:	58 %	HbE:	31,0 pg
Lymphozyten:	33 %	Thrombozyten:	278.000/µl
Monozyten:	5 %		

Erklärung zu den Abbildungen:

Abb. 6: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe.
Der t-Test ergab zwischen der 72. und 120. Std. einen t-Wert von 0,46, so daß sie als Mittelwertskurve zusammengefaßt wurden.

Abb. 7: Die verschiedenen, gemessenen Zellarten nach den gegebenen Zeitabständen:


46.0 %
48.4 %
%
40
35
30
25
20
15
10
5
4.0
5.0
6.0
7.0
8.0
9.0
10.0
11.0
12.0
13.0
14.0
15.0
16.0 µ
ABB 6
0 STD
72. STD
120. STD
168. STD

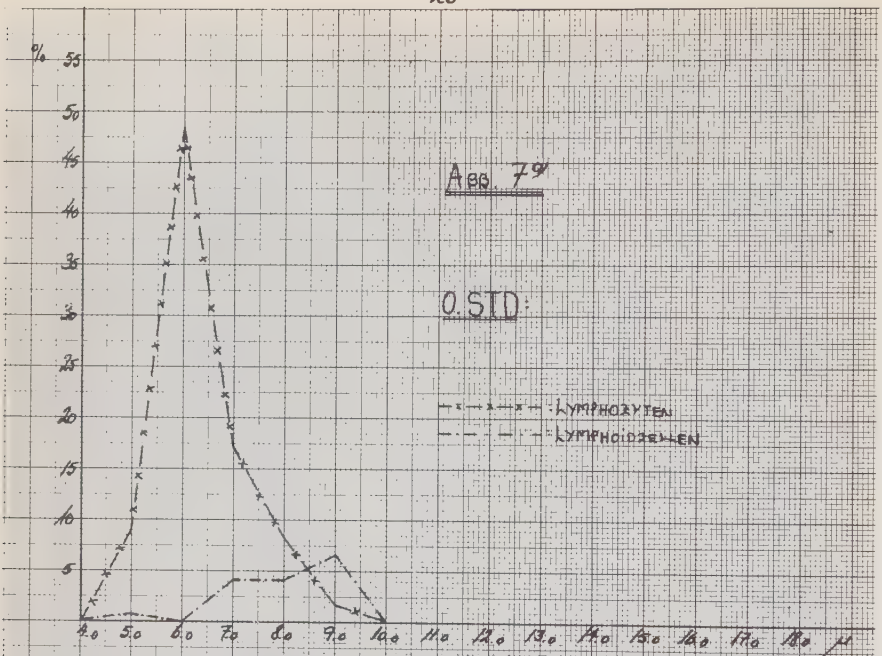

%
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
4.0 5.0 6.0 7.0 8.0 9.0 10.0 11.0 12.0 13.0 14.0 15.0 16.0 17.0 18.0 µ
0. STD:
LYMPHOZYTEN
LYMPHOIDZELLEN

Abb. 7a

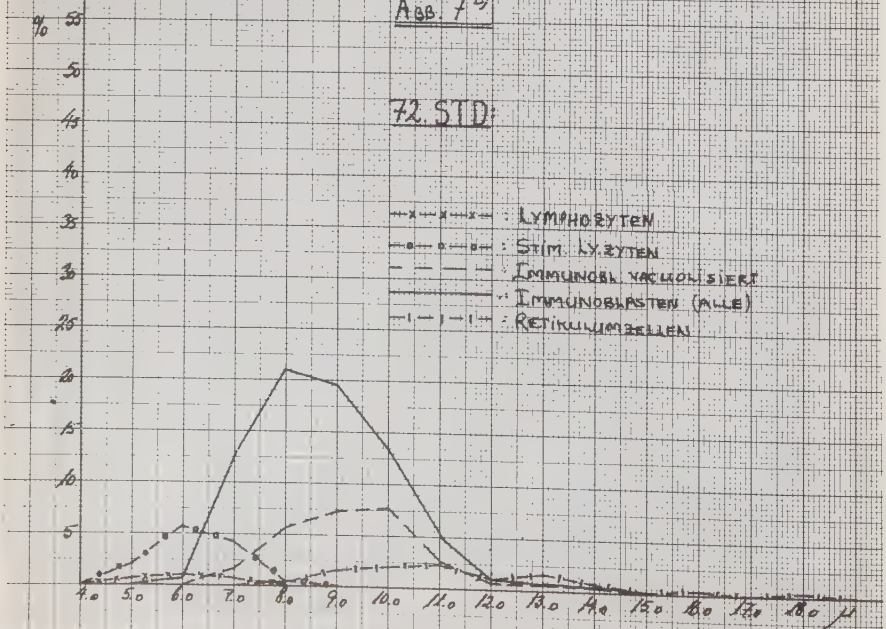
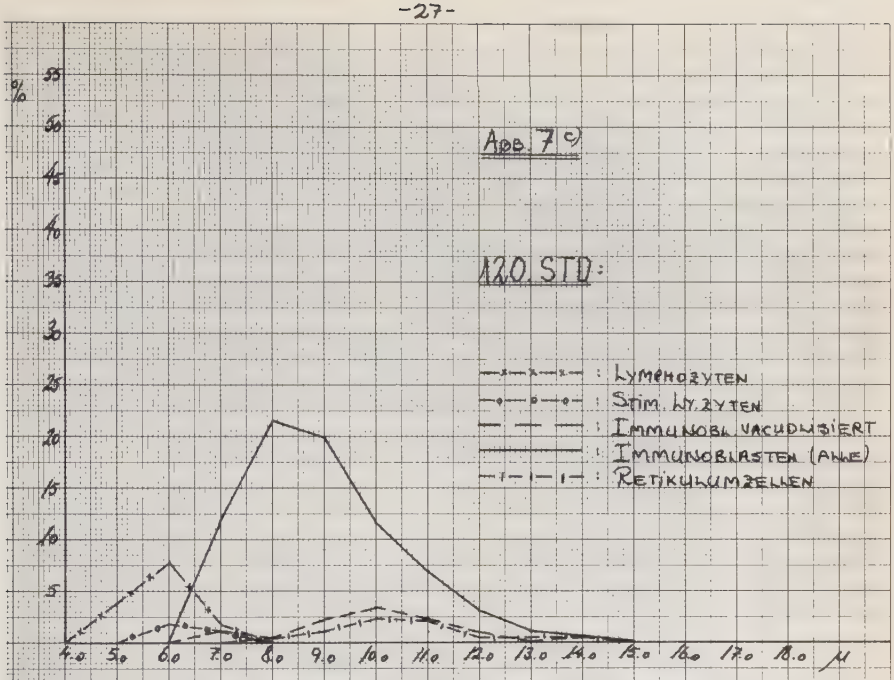
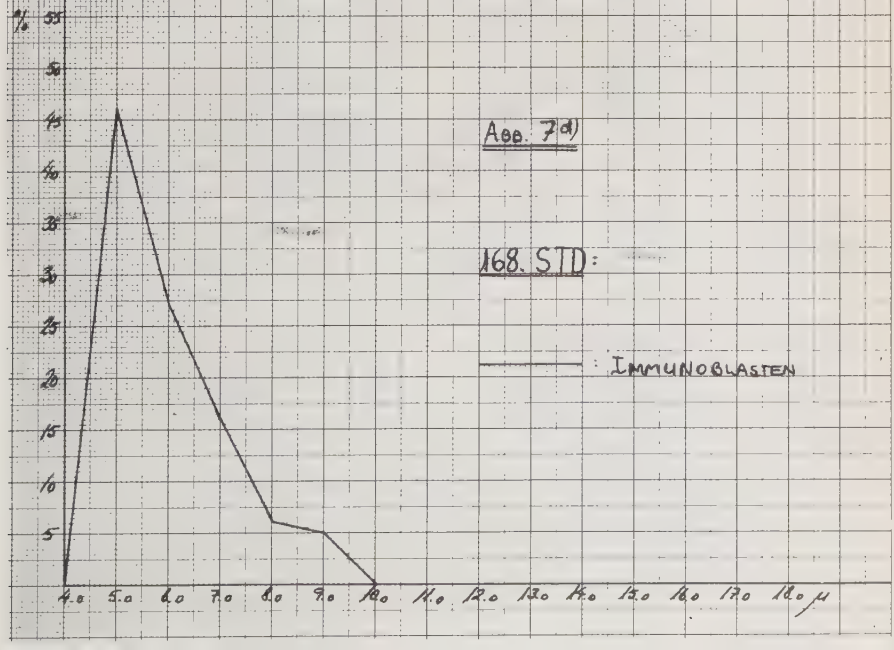

%
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
4.0 5.0 6.0 7.0 8.0 9.0 10.0 11.0 12.0 13.0 14.0 15.0 16.0 17.0 18.0 µ
72. STD:
LYMPHOZYTEN
STIM. LYZYTEN
IMMUNOBL. VACUOLISIERT
IMMUNOBLASTEN (ALLE)
RETIKULUMZELLEN

Abb. 7b


%
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
4.0 5.0 6.0 7.0 8.0 9.0 10.0 11.0 12.0 13.0 14.0 15.0 16.0 17.0 18.0 µ
Abb. 7 c)
120. STD:
: LYMPHOZYTEN
: STIM. LYMPHOZYTEN
: IMMUNOBL. VACUOLISIERT
: IMMUNOBLASTEN (ANKE)
: RETIKULUMZELLEN


%
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
4.0 5.0 6.0 7.0 8.0 9.0 10.0 11.0 12.0 13.0 14.0 15.0 16.0 17.0 18.0 µ
Abb. 7 d)
168. STD:
: IMMUNOBLASTEN

deren Gipfel bei 8 µ bzw. 10 µ liegen. Hier finden sich auch Retikulumzellen in der Kultur mit Gipfeln bei 11 und 13 µ. Im 120-Std.-Präparat (Abb. 7 c)) liegen ähnliche Verhältnisse vor. Die Gipfel der einzelnen Zellarten liegen folgendermaßen: Lymphozyten bei 6 µ, Immunoblasten bei 8-9 µ, vakuolisierte Immunoblasten bei 10 µ und Retikulumzellen bei 10-12 µ.

Im 168-Std.-Präparat (Abb. 7 d)) wurden nur Immunoblasten differenziert, deren Gipfel bei 5 µ liegt.

Der Computer rechnete folgende Mittelwerte und mittlere Fehler aus:

		Kerndurchmesser
0.Std.:	Lymphozyten:	6,35 ± 0,09 µ und
	Lymphoidzellen:	8,01 ± 0,27 µ.
72. Std.:	Lymphozyten:	6,20 ± 0,48 µ,
	stim. Ly.zyten:	6,24 ± 0,21 µ,
	Immunoblasten:	8,45 ± 0,18 µ,
	vak. Immunobl.:	9,39 ± 0,27 µ und
	Retikulumzellen:	11,39 ± 0,64 µ.
120. Std.:	Lymphozyten:	5,85 ± 0,17 µ,
	stim. Ly.zyten:	6,34 ± 0,28 µ,
	Immunoblasten:	8,76 ± 0,17 µ,
	vak. Immunobl.:	10,00 ± 0,47 µ und
	Retikulumzellen:	10,61 ± 0,55 µ.
168. Std.:	Immunoblasten:	5,97 ± 0,11 µ.

Daraus rechneten wir folgenden Mittelwert und mittleren Fehler der einzelnen Zellarten:

Lymphozyten:	6,13 ± 0,24 µ,
Lymphoidzellen:	8,01 ± 0,27 µ,
stim. Ly.zyten:	6,29 ± 0,24 µ,
Immunoblasten:	8,60 ± 0,18 µ,
vak. Immunobl.:	9,69 ± 0,37 µ und
Retikulumzellen:	11,00 ± 0,59 µ.

Hier wurde aus demselben Grunde wie im Versuch I der Mittelwert der Immunoblasten der 168. Std. nicht in den Endmittelwert der Immunoblasten mit einbezogen.

Versuch III: Phytohämagglutinin-Kultur des Venenblutes der Patientin S., 64 Jahre.

Diagnose: Gastroenteritis, Dyskinesie der Gallenwege.

Laborbefunde:

Leukozyten:	8800/µl	Erythrozyten:	4,18 Mill/µl
Stabkernige:	8 %	Hb:	11,8 g%
Segmentkernige:	61 %	HbE:	28,3 pg
Lymphozyten:	29 %	Anisozytose:	+
Monozyten:	2 %	Poikilozytose:	+

Erklärung zu den Abbildungen:

Abb. 8: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe.
Der t-Test ergab zwischen der 72. und 120. Std. einen t-Wert von 1,97, so daß sie als Mittelwertskurve zusammengefaßt wurden.

Abb. 9: Die verschiedenen, gemessenen Zellarten nach den gegebenen Zeitabständen:

Lymphozyten,
Lymphoidzellen,
Virozyten,
stimulierte Lymphozyten,
Immunoblasten,
vakuolisierte Immunoblasten und
Retikulumzellen.

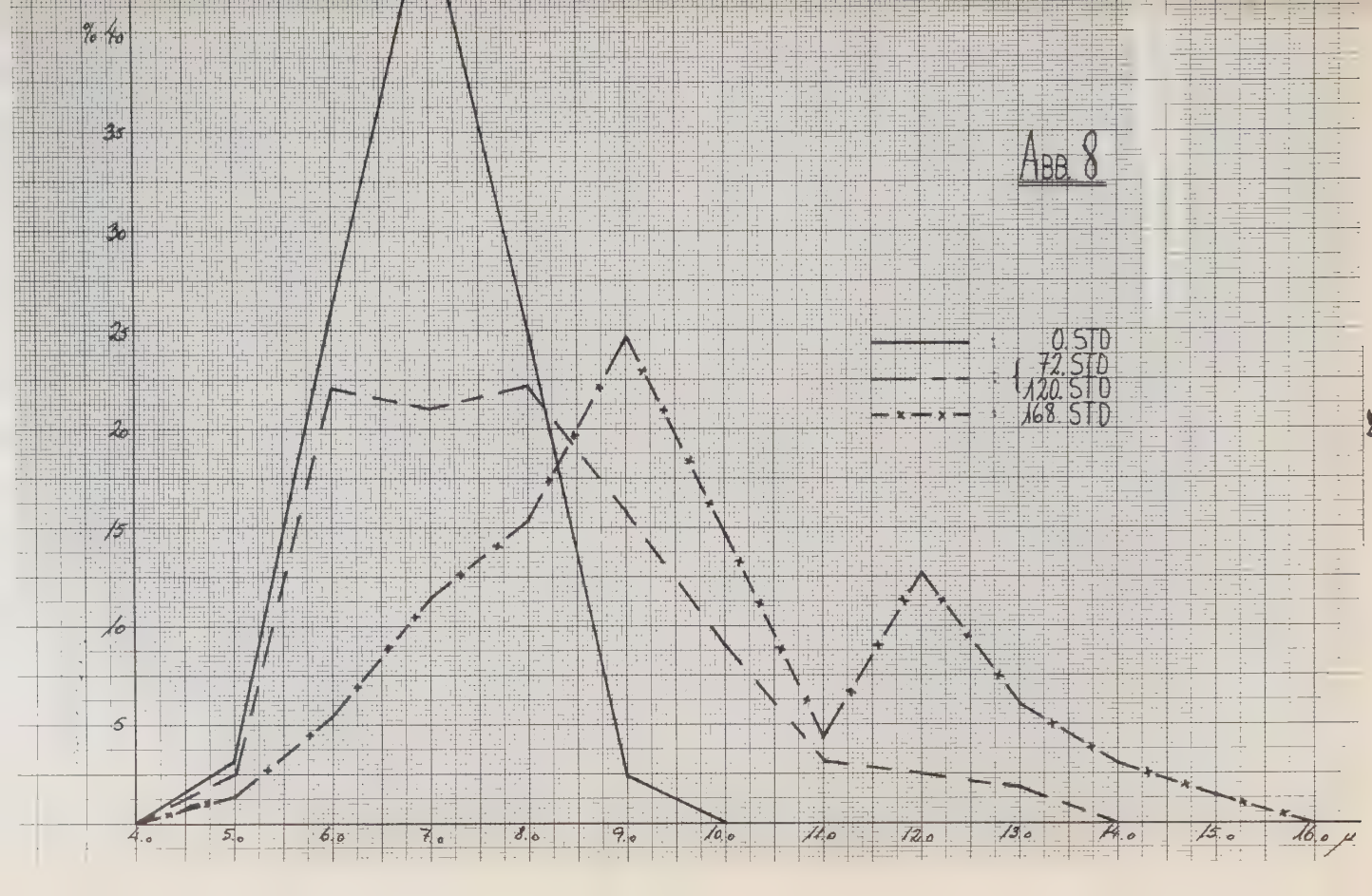
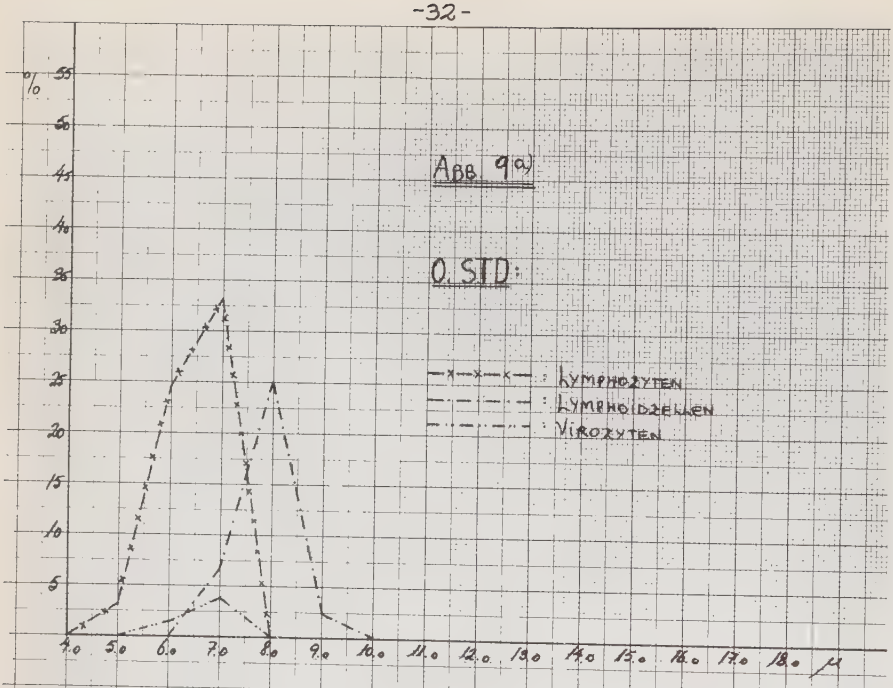
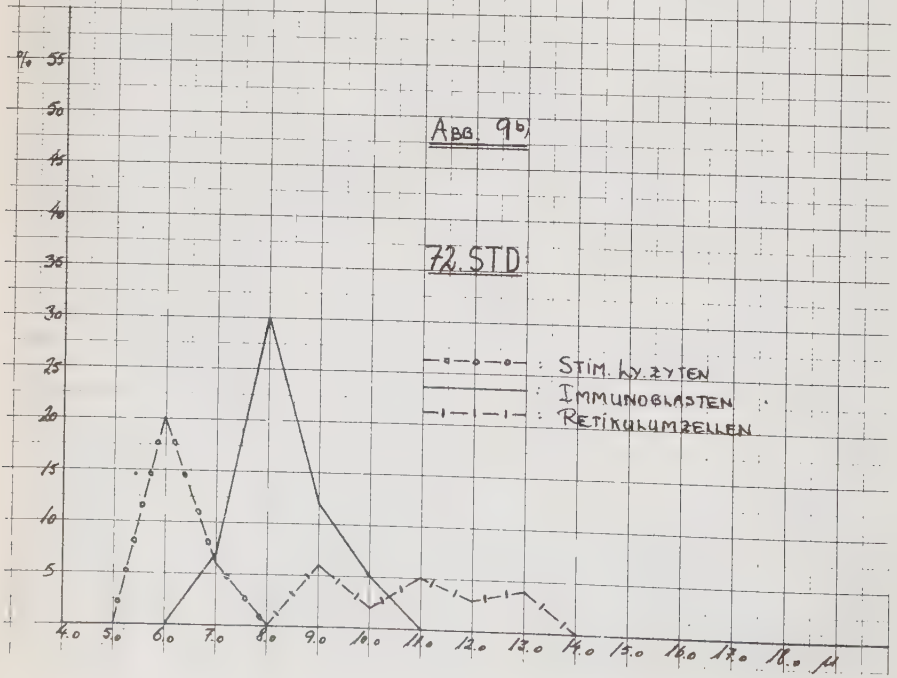

%
40
35
30
25
20
15
10
5
4.0
5.0
6.0
7.0
8.0
9.0
10.0
11.0
12.0
13.0
14.0
15.0
16.0 µ
0 STD
72. STD
120. STD
168. STD

ABB. 8


%
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
4.0 5.0 6.0 7.0 8.0 9.0 10.0 11.0 12.0 13.0 14.0 15.0 16.0 17.0 18.0 µ
ABB 9(a)
0. STD:
LYMPHOZYTEN
LYMPHOIDZELLEN
VIROZYTEN


%
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
4.0 5.0 6.0 7.0 8.0 9.0 10.0 11.0 12.0 13.0 14.0 15.0 16.0 17.0 18.0 µ
ABB. 9b
72. STD:
STIM. LY. ZYTEN
IMMUNOBLASTEN
RETIKULUMZELLEN

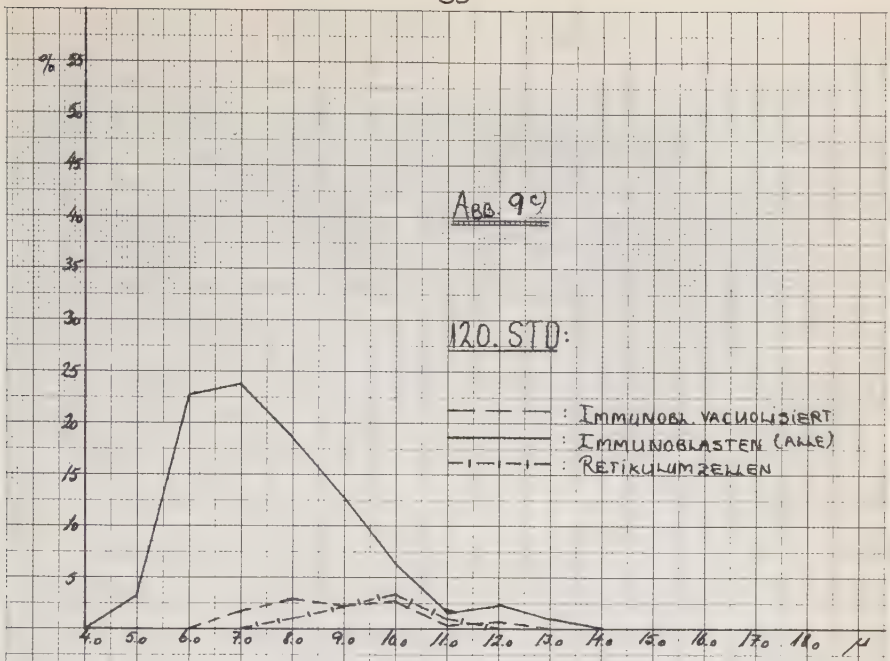


ABB. 9c)

120. STD:

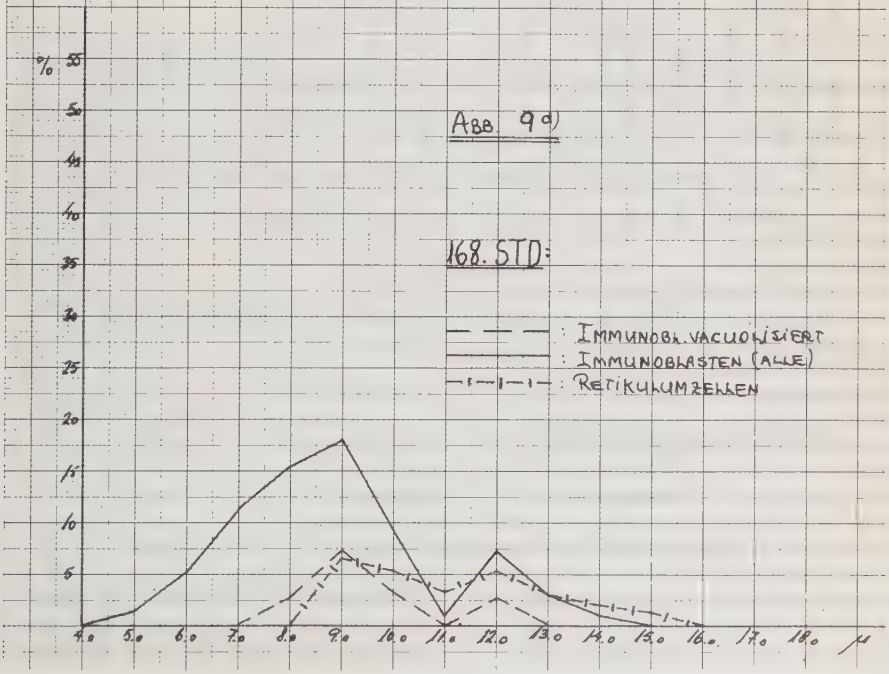


ABB. 9d)

168. STD:

Versuch III:

Bei Betrachten der Summenkurven (Abb. 8) erkennt man einen ähnlichen Verlauf wie in den ersten beiden Versuchen. In der 120. Std. findet man schon die erwartete Verkleinerung der Zellen, die dann nach weiteren 48 Std. wieder an Größe zugenommen haben.

Die Kurven der verschiedenen, gemessenen Zellarten zeigen folgendes: Im 0-Std.-Präparat (Abb. 9 a)) sind neben Lymphozyten (60,9 %) viele Lymphoidzellen (34,0 %) gemessen worden, deren Gipfel bei 7 bzw. 8 µ liegen. Virozyten haben einen Gipfel bei 7 µ. Im 72-Std.-Präparat (Abb. 9 b)) sind Lymphozyten nicht mehr vorhanden. Hier sind die stimulierten Lymphozyten kleiner geworden (26,0 %). Der Hauptanteil sind Immunoblasten (54,0 %) mit Gipfeln bei 6 bzw. 8 µ. Die Retikulumzellen (20,0 %) haben Gipfel bei 9, 11 und 13 µ. Im 120-Std.-Präparat (Abb. 9 c)) sehen wir wieder kleine (6-7 µ), große (12 µ) sowie vakuolisierte Immunoblasten und Retikulumzellen (10 µ). Im 168-Std.-Präparat (Abb. 9 d)) finden sich wieder mehr große Immunoblasten (9-12 µ) sowie vakuolisierte Immunoblasten (9 und 12 µ) und Retikulumzellen (9 und 12 µ) in der Kultur.

Der Computer rechnete folgende Mittelwerte und mittlere Fehler aus:

		Kerndurchmesser:
0. Std.:	Lymphozyten:	6,49 ± 0,08 µ,
	Lymphoidzellen:	7,88 ± 0,09 µ und
	Virozyten:	6,76 ± 0,19 µ.

72. Std.:	Stim. Lyzyten:	6,23 ± 0,08 µ,
	Immunoblasten:	8,28 ± 0,11 µ und
	Retikulumzellen:	10,85 ± 0,33 µ.
120. Std.:	Immunoblasten:	7,46 ± 0,18 µ,
	vak. Immunobl.:	8,91 ± 0,42 µ und
	Retikulumzellen:	9,57 ± 0,32 µ.
168. Std.:	Immunoblasten:	8,69 ± 0,28 µ,
	vak. Immunobl.:	9,54 ± 0,32 µ und
	Retikulumzellen:	11,14 ± 0,35 µ.

Daraus errechneten wir folgende Mittelwerte und mittlere Fehler:

Lymphozyten:	6,49 ± 0,08 µ,
Lymphoidzellen:	7,88 ± 0,09 µ,
Virozyten:	6,76 ± 0,19 µ,
stim. Ly.zyten:	6,23 ± 0,08 µ,
Immunoblasten:	8,48 ± 0,19 µ,
vak. Immunobl.:	9,22 ± 0,37 µ und
Retikulumzellen:	10,52 ± 0,33 µ.

Der Mittelwert der Immunoblasten der 120. Std. ist nicht in dem Endwert der Immunoblasten berücksichtigt worden, da wir meinen, daß diese sich teilende Immunoblasten darstellen.

Versuch IV: Phytohämagglutinin-Kultur des Venenblutes der Patientin P., 61 Jahre.

Diagnose: Seit 1968 bekannte chronische lymphatische Leukämie bei dekompensierter Herzinsuffizienz und Diabetes mellitus.

Therapie: Zur Zeit der Blutentnahme (1971) stand die Patientin unter der Medikation mit Lanicor® (2mal 1 Tbl/die) und Euglucon® (1/2 Tbl/die).

Laborbefunde:

Leukozyten:	9900/µl	Erythrozyten:	4,77 Mill/µl
Stabkernige:	2 %	Hb:	13,2 g%
Segmentkernige:	42 %	HbE:	27,8 pg
Basophile:	2 %	Thrombozyten:	96.000/µl
Eosinophile:	3 %	Anisocytose:	(+)
Lymphozyten:	47 %	Polikilocytose:	(+)
Monozyten:	4 %	Polychromasie:	(+)
Gumpr. Kernschatten:	15 %	BSK:	17/32

Die Patientin wurde ausgewählt, da sie in mehreren Phytohämagglutinin-Kulturen sehr gute Stimulation zeigte.

Erklärung zu den Abbildungen:

Abb. 10: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe (t-Wert zwischen der 72. und 120. Std. = 0,74).

Abb. 11: Die verschiedenen, gemessenen Zellarten nach den gegebenen Zeitabständen:

Lymphozyten,
Lymphoidzellen,
stimulierte Lymphozyten,
Immunoblasten,
vakuolisierte Immunoblasten und
Retikulumzellen.

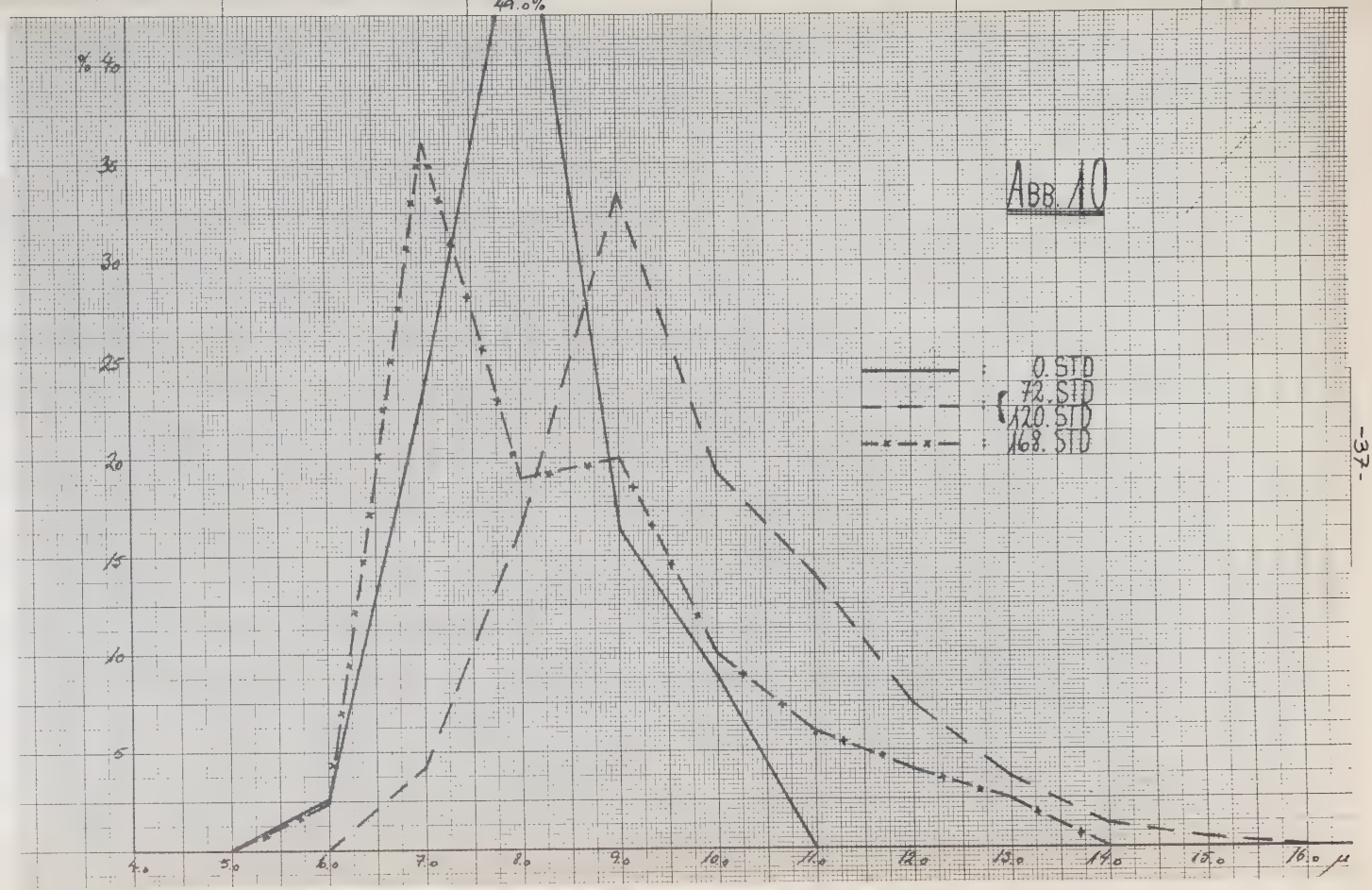

49.0%
% 40
35
30
25
20
15
10
5
4.0
5.0
6.0
7.0
8.0
9.0
10.0
11.0
12.0
13.0
14.0
15.0
16.0 µ
0. STD
72. STD
120. STD
168. STD

ABB. 10

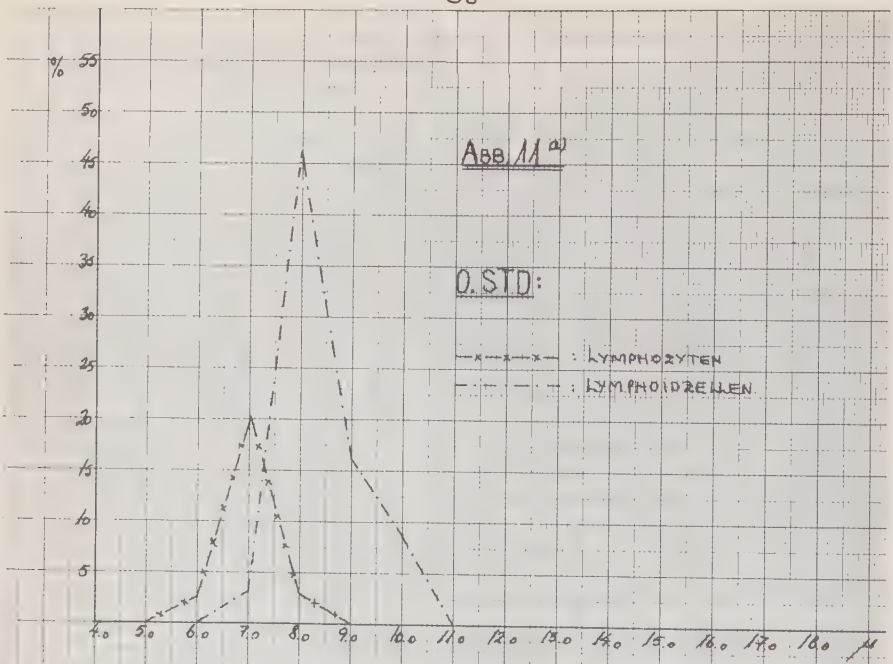


Abb. 11 a)

0. STD:

—x—x—x— : LYMPHOZYTEN

– – – – – : LYMPHOIDZELLEN

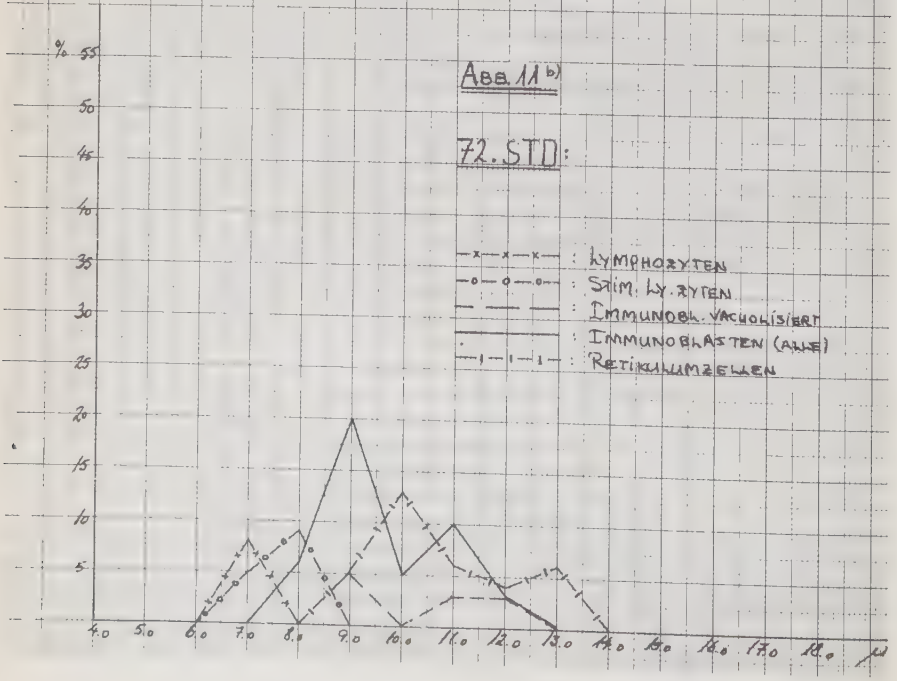


Abb. 11 b)

72. STD:

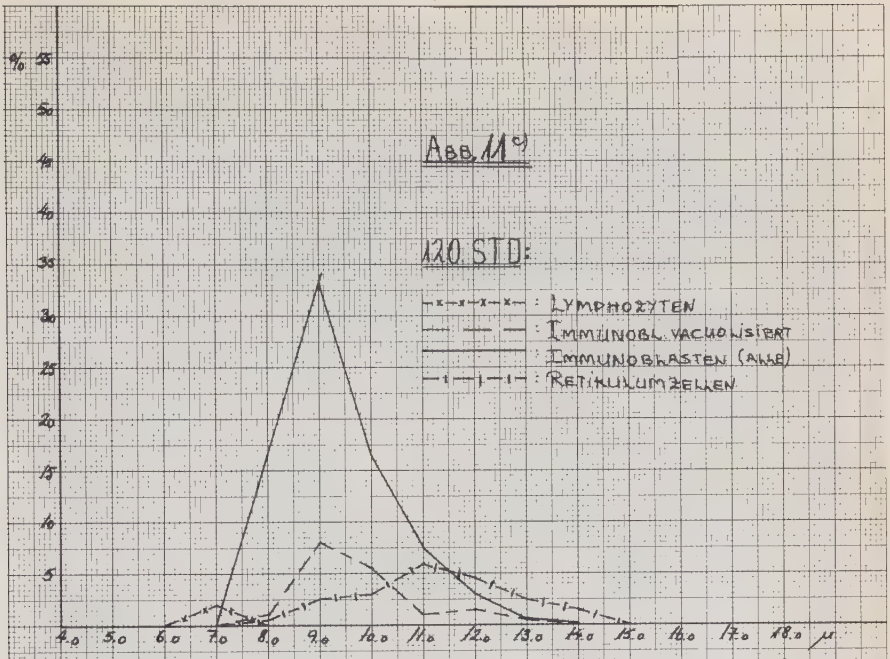
—x—x—x— : LYMPHOZYTEN

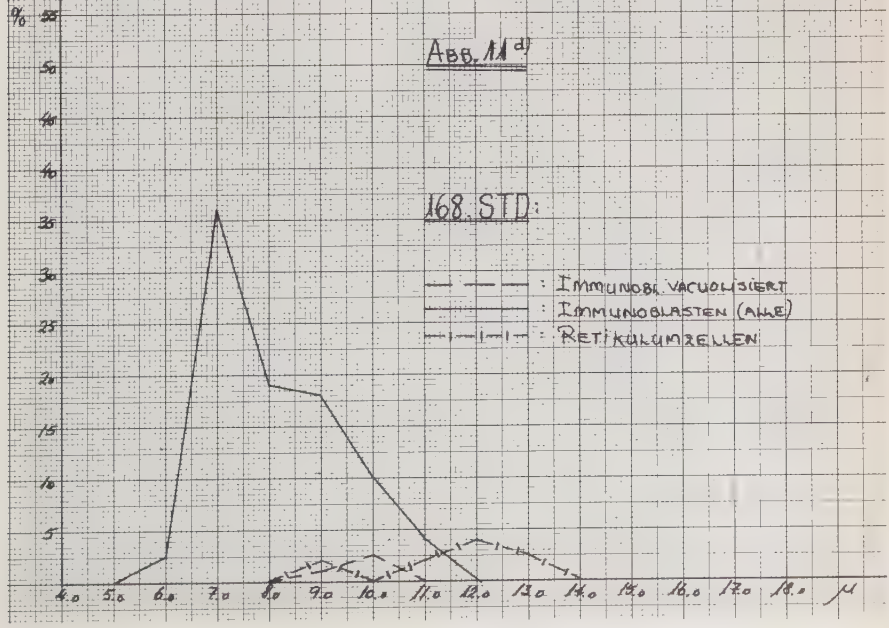
—o—o—o— : STIM. LY. ZYTEN

— — — : IMMUNOBL. VACUOLISIERT

——— : IMMUNOBLASTEN (ALLE)

—|—|—|— : RETIKULUMZELLEN


%
Abb. 11 c)
120. STD:
: Lymphozyten
: Immunobl. vacuolisiert
: Immunoblasten (alle)
: Retikulumzellen
4.0 5.0 6.0 7.0 8.0 9.0 10.0 11.0 12.0 13.0 14.0 15.0 16.0 17.0 18.0 µ


%
Abb. 11 d)
168. STD:
: Immunobl. vacuolisiert
: Immunoblasten (alle)
: Retikulumzellen
4.0 5.0 6.0 7.0 8.0 9.0 10.0 11.0 12.0 13.0 14.0 15.0 16.0 17.0 18.0 µ

Versuch IV:

Bei Betrachtung der Summenkurven (Abb. 10) sieht man wieder denselben Verlauf der Kultur wie in den vorangegangenen drei Versuchen. Aus den Immunoblasten entstehen nach 168 Std. kleine Zellen (Lymphozyten bzw. Immunozyten).

Die Kurven der verschiedenen, gemessenen Zellarten zeigen ebenfalls ähnlichen Verlauf wie in den früheren Versuchen. Die Gipfel der Kurven liegen in den einzelnen Präparaten folgendermaßen: Im O-Std.-Präparat (Abb. 11 a)): Lymphozyten (25,8 %) bei 7 µ und Lymphoidzellen (74,2 %) bei 8 µ. Im 72-Std.-Präparat (Abb. 11 b)): Lymphozyten bei 7 µ, stimulierte Lymphozyten bei 8 µ, Immunoblasten bei 9 und 11 µ, vakuolisierte Immunoblasten bei 9 und 11-12 µ und Retikulumzellen bei 10 und 13 µ. Im 120-Std.-Präparat (Abb. 11 c)): Immunoblasten bei 9 µ, vakuolisierte Immunoblasten bei 9 und 12 µ und Retikulumzellen bei 11 µ. Im 168-Std.-Präparat (Abb. 11 d)): Immunoblasten bei 7 und 9 µ, vakuolisierte Immunoblasten bei 10 µ und Retikulumzellen bei 9 und 12 µ.

Der Computer rechnete folgende Mittelwerte und mittlere Fehler aus:

		Kerndurchmesser:
O. Std.:	Lymphozyten:	7,02 ± 0,09 µ und
	Lymphoidzellen:	8,41 ± 0,09 µ.
72. Std.:	Lymphozyten:	7,00 ± 0,00 µ,
	stim. Ly.zyten:	7,64 ± 0,13 µ,
	Immunoblasten:	9,39 ± 0,18 µ,
	vak. Immunobl.:	10,36 ± 0,39 µ und
	Retikulumzellen:	10,79 ± 0,23 µ.

120. Std.:	Lymphozyten:	7,00 ± 0,00 µ,
	Immunoblasten:	9,22 ± 0,13 µ,
	vak. Immunobl.:	9,74 ± 0,27 µ und
	Retikulumzellen:	11,31 ± 0,34 µ.
168. Std.:	Immunoblasten:	8,03 ± 0,13 µ,
	vak. Immunobl.:	9,62 ± 0,24 µ und
	Retikulumzellen:	11,48 ± 0,42 µ.

Daraus wurden folgende Mittelwerte und mittlere Fehler gerechnet:

Lymphozyten:	7,01 ± 0,03 µ,
Lymphoidzellen:	8,41 ± 0,09 µ,
stim. Ly.zyten:	7,64 ± 0,13 µ,
Immunoblasten:	9,30 ± 0,15 µ,
vak. Immunobl.:	9,91 ± 0,30 µ und
Retikulumzellen:	11,19 ± 0,30 µ.

Die Immunoblastenwerte der 168. Std. sind hier ebenfalls nicht in dem Endwert berücksichtigt worden, da diese auch hier sich teilende Immunoblasten darstellen.

Versuch V: Phytohämagglutinin-Kultur des Venenblutes der Patientin R., 64 Jahre.

Diagnose: Seit 1968 bekannte chronische lymphatische Leukämie durch Knochenmark- und Lymphoknotenuntersuchungen bestätigt, aber von Anfang an mit guter, immunologischer Reaktion.

Therapie: Zur Zeit der Blutentnahme (1971) stand die Patientin unter keiner Therapie. 1968 wurde sie mit Leukeran® (12 mg/die) und Furadantin® (1 Tbl/die) behandelt.

Laborbefunde:

Leukozyten:	17.700/µl	Erythrozyten:	3,83 Mill/µl
Stabkernige:	2 %	Hb:	12,2 g%
Segmentkernige:	16 %	HbE:	32,0 pg
Lymphozyten:	82 %	Retikulozyten:	18,0 ‰
Gumpr. Kern-		Thrombozyten:	127.000/µl
schatten:	27 %	Anisocytose:	+
		Poikilocytose:	(+)

Erklärung zu den Abbildungen:

Abb. 12: Summenkurven aller gemessenen Zellkerne der Stichprobe.

Abb. 13: Die verschiedenen, gemessenen Zellarten nach den gegebenen Zeitabständen:

Lymphozyten,
Lymphoidzellen,
stimulierte Lymphozyten,
Immunoblasten,
vakuolisierte Immunoblasten und
Retikulumzellen.

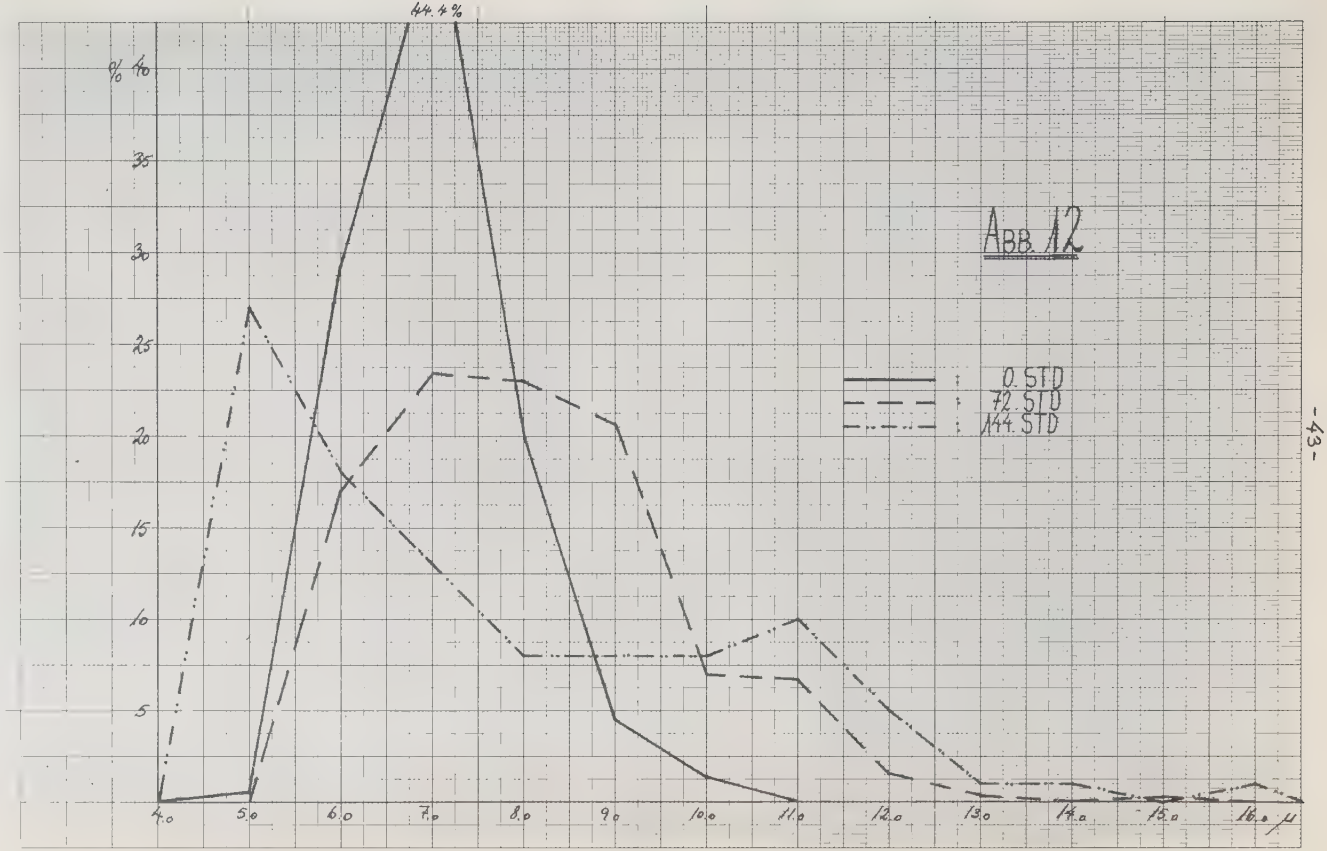
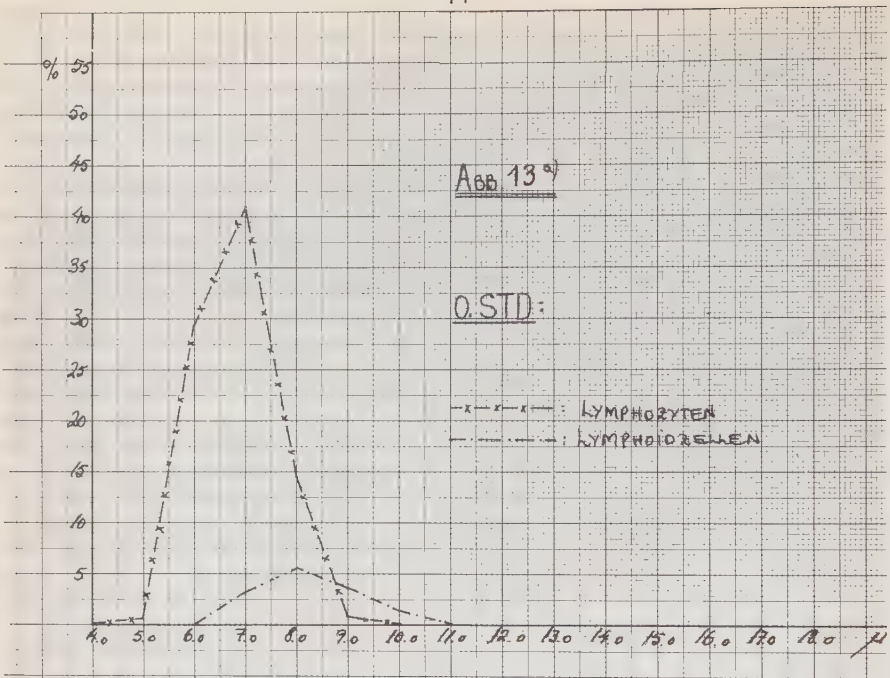
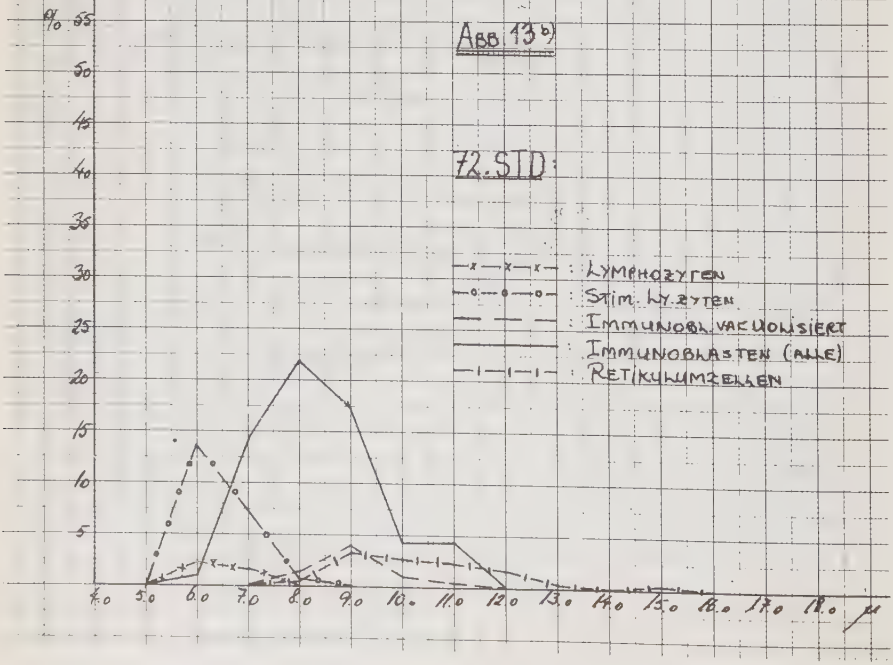

44.4 %
% 40
35
30
25
20
15
10
5
4.0
5.0
6.0
7.0
8.0
9.0
10.0
11.0
12.0
13.0
14.0
15.0
16.0 µ
0. STD
72. STD
144. STD

ABB. 12


%
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
4.0 5.0 6.0 7.0 8.0 9.0 10.0 11.0 12.0 13.0 14.0 15.0 16.0 17.0 18.0 µ
ABB. 13 a)
0. STD:
LYMPHOZYTEN
LYMPHOIDZELLEN


%
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
4.0 5.0 6.0 7.0 8.0 9.0 10.0 11.0 12.0 13.0 14.0 15.0 16.0 17.0 18.0 µ
ABB. 13 b)
72. STD:
LYMPHOZYTEN
STIM. LYZYTEN
IMMUNOBLASTEN (ALLE)
RETIKULUMZELLEN

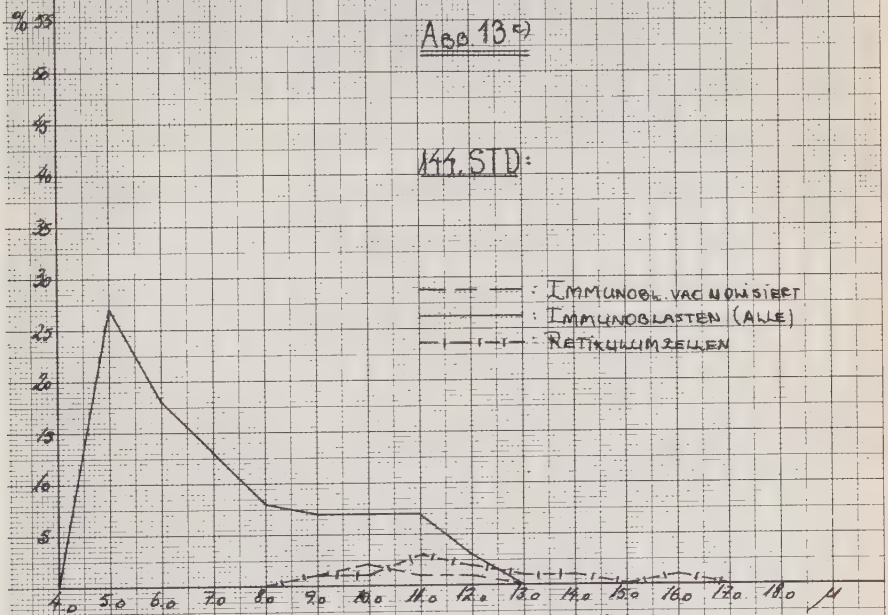


ABB. 13 c)

144. STD:

Versuch V:

Aus den Summenkurven (Abb. 12) sieht man noch mal den Verlauf der anderen vier Versuche. Hier entstehen bereits nach 144 Std. kleine Zellen (Lymphozyten bzw. Immunozyten) aus den Immunoblasten.
Die Kurven der verschiedenen, gemessenen Zellarten zeigen hier auch noch einmal denselben Verlauf wie in den anderen Versuchen. Die Gipfel der Kurven liegen in den einzelnen Präparaten folgendermaßen: Im 0-Std.-Präparat (Abb. 13 a)): Lymphozyten bei 6-7 µ und Lymphoidzellen bei 8 µ. Im 72-Std.-Präparat (Abb. 13 b)): Lymphozyten bei 6-7 µ, stimulierte Lymphozyten bei 6 µ, Immunoblasten bei 8 und 11 µ, vakuolisierte Immunoblasten bei 9 µ und Retikulumzellen bei 9 µ. Im 144-Std.-Präparat (Abb. 13 c)): Immunoblasten bei 5 und 11 µ, vakuolisierte Immunoblasten bei 10 und 12 µ und Retikulumzellen bei 10 und 16 µ.

Der Computer rechnete folgende Mittelwerte und mittlere Fehler aus:

		Kerndurchmesser:
0. Std.:	Lymphozyten:	6,84 ± 0,08 µ und
	Lymphoidzellen:	8,24 ± 0,25 µ.
72. Std.:	Lymphozyten:	6,42 ± 0,25 µ,
	stim. Ly.zyten:	6,40 ± 0,12 µ,
	Immunoblasten:	8,27 ± 0,15 µ,
	vak. Immunobl.:	9,05 ± 0,28 µ und
	Retikulumzellen:	10,39 ± 0,43 µ.

144. Std.: Immunoblasten: 6,96 ± 0,22 µ,
vak. Immunobl.: 10,40 ± 0,46 µ und
Retikulumzellen: 11,90 ± 0,61 µ.

Daraus errechneten wir folgende Mittelwerte und mittlere Fehler:

Lymphozyten: 6,63 ± 0,16 µ,
Lymphoidzellen: 8,24 ± 0,25 µ,
stim. Ly.zyten: 6,40 ± 0,12 µ,
Immunoblasten: 8,27 ± 0,15 µ,
vak. Immunobl.: 9,72 ± 0,37 µ und
Retikulumzellen: 11,14 ± 0,52 µ.

Der Mittelwert der Immunoblasten der 144. Std. ist hier nicht in dem Endwert berücksichtigt worden. Aus demselben Grunde wie in den vier vorangegangenen Versuchen.

Zusammenfassung der Ergebnisse

Wir untersuchten Phytohämagglutinin-Kulturen von 5 Patienten, wovon 3 als immunologisch normal reagierend aufgefaßt wurden (Versuch I, II und III) und 2 mit chronischer, lymphatischer Leukämie (CLL), die entgegen der weitverbreiteten Meinung gut auf Phytohämagglutinin (PHA) ansprachen.

Es sollte der Versuch unternommen werden, die Phytohämagglutinin-stimulierten Zellen anhand von Kernmessungen und morphologischer Differenzierung zu klassifizieren.

Die Kerngrößenmessung wurde mit Hilfe eines Okularmikrometers durchgeführt, womit wir Meßgrößen mit einer Genauigkeit von $\pm$ 0,2 µ erhielten.

Es wurden jeweils die Sofortausstriche (0. Std.) und Kulturpräparate von den vorgegebenen Zeitabständen (72.-240. Std.) ausgewertet. In diesen Präparaten haben wir insgesamt 8300 Zellen ausgezählt und davon 7500 Zellen ausgemessen.
Nachdem jeder Versuch einzeln behandelt worden ist, wollen wir uns hier nur ein Gesamtbild machen: Im 0-Std.-Präparat der "Normal"-Personen überwiegen die Lymphozyten sowie bei den Versuchen der chronischen, lymphatischen Leukämie (CLL) die großen Lymphozyten bzw. Lymphoidzellen. Der Kern der Lymphozyten hat einen Durchmesser von 6-7 µ, in den CLL-Versuchen ist er etwas größer (um 7 µ). Die Lymphoidzellen haben einen Kerndurchmesser von 7-8 µ (bei CLL um 8 µ). Die wenigen Virozyten haben meist denselben bzw. etwas größeren Kerndurchmesser als die Lymphozyten.

Im 72-Std.-Präparat findet man weder Virozyten noch Lymphoidzellen und eine starke Abnahme der Lymphozyten. Es ist eine starke Zunahme der stimulierten Lymphozyten mit einem Kerndurchmesser von 6-7 µ (CLL: 7-8 µ) festzustellen. Hier finden sich auch schon nichtvakuolisierte und vakuolisierte Immunoblasten, deren Gipfel bei 8-9 bzw. 9-11 µ liegen (bei CLL etwas größer). Zu diesem Zeitpunkt lassen sich auch einige Retikulumzellen mit Gipfel des Kerndurchmessers bei 9-13 µ erkennen.

Im 120-Std.-Präparat finden sich keine stimulierten Lymphozyten mehr, dafür vorwiegend kleinere und größere nichtvakuolisierte und vakuolisierte Immunoblasten, deren Gipfel bei 8-9 bzw. 9-10 µ liegen sowie Retikulumzellen mit Gipfel bei 10-12 µ.

Im Versuch III sehen wir hier schon kleine, neugebildete Zellen (6-7 µ), im Versuch V treten diese erst nach 144 Std. (5 µ) auf. Diese Verkleinerung stellt sich in den anderen Versuchen erst nach 168 Std. dar (Versuch I: 5 µ, Versuch II: 5 µ und Versuch IV: 7 µ).
Nach unserer morphologischen Differenzierung und Kernmessungen treten nach 120-168 Std. kleine Zellen auf, bei denen wir zwei Arten, Lymphozyten und Immunozyten, unterscheiden können, die wir im Versuch I eingehend beschrieben und bebildert haben.
In den länger durchgeführten Versuchen (I) haben diese kleinen Zellen sich nach 192. Std. vermehrt, die sich dann nach 240. Std. in kleine und große Immunoblasten umgewandelt haben, so daß man einen 2. Wachstumsschub vermuten muß.

Wenn wir die ermittelten Mittelwerte und mittlere Fehler der 3 Normal- und 2 CLL-Versuche zusammenfassen und daraus einen Gesamtmittelwert errechnen, so bekommen wir folgende Zellkerngrößen:

Tabelle 2:

Lymphozyten:	Normal:	6,24 ± 0,16 µ (5- 9 µ),
:	CLL:	6,82 ± 0,09 µ (5- 8 µ),
Virozyten:	Normal:	6,48 ± 0,20 µ (5- 8 µ),
:	CLL:	- - -
stim. Ly.zyten:	Normal:	6,48 ± 0,14 µ (5- 8 µ),
:	CLL:	7,02 ± 0,12 µ (6- 8 µ),
Lymphoidzellen:	Normal:	7,59 ± 0,20 µ (5- 9 µ),
:	CLL:	8,32 ± 0,17 µ (7-10 µ),
Immunoblasten: (alle)	Normal:	8,51 ± 0,16 µ (5-15 µ),
:	CLL:	8,78 ± 0,15 µ (5-13 µ),
vak. Immunobl.:	Normal:	9,57 ± 0,39 µ (7-15 µ),
:	CLL:	9,82 ± 0,33 µ (8-13 µ) und
Retikulumzellen:	Normal:	10,80 ± 0,48 µ (8-18 µ),
:	CLL:	11,16 ± 0,41 µ (8-16 µ).

Die in Klammern stehenden Zahlen geben den kleinsten bzw. größten Kerndurchmesser, die bei den einzelnen Zellarten gemessen wurden, an. Daß bei so vielen Zellarten ein Durchmesser bis auf 5 µ gemessen wurde, liegt an der Schwierigkeit, einerseits zwischen den Lymphozyten und den stimulierten Lymphozyten, andererseits zwischen diesen und den kleinen Immunoblasten, eine korrekte, morphologische Differenzierung durchzuführen.

Die neuentstandenen Immunozyten und Lymphozyten sind in der Tabelle 2 nicht aufgeführt, da wir meinen, daß diese weder

in die Gruppe der Lymphozyten noch die der Immunoblasten hineingehören, so daß sie hier einzeln dargestellt werden:

neu entstandene Immunozyten und Lymphozyten (ab 120 Kulturstunden):	Normal: 6,76 ± 0,14 µ	(5-8)
	CLL: 7,49 ± 0,17 µ.	(5-8)

D i s k u s s i o n

In dieser Arbeit haben wir die Kerndurchmesser als Klassifizierungsgröße ausgewählt und nicht das von diesen errechenbare Volumen, weil wir die Meinung vieler, anderer Autoren (5, 6, 8, 15, 25, 32, 34) teilen, daß im Ausstrich die Umrechnung von Durchmesser in Kugelvolumen ein verfälschtes Bild geben würde. Da wir unsere Werte mit den in der Literatur angegebenen Ergebnissen vergleichen wollten, haben wir versuchsweise zweierlei Rechenarten vorgenommen:

Auf der einen Seite haben wir von den ermittelten Kerndurchmessern mit der einfachen Kugelformel ($V = 4/3 \times \pi \times r^3$) die entsprechenden Volumina ausgerechnet, wobei wir die mit dem Computer errechneten Mittelwerte etwas abgerundet haben. Mit dieser Umrechnung wollten wir unsere Meßergebnisse mit anderen auch aus Ausstrichpräparaten erhaltenen Ergebnissen über Lymphozytenkernmessungen vergleichen und nachprüfen, ob die Zellen in der Phytohämagglutinin-Kultur mit den Angaben von LEIBETSEDER (25) bezogen auf die Jacobj'sche Kernklasseneinteilung übereinstimmten.

Auf der anderen Seite haben wir die von BODENSTEIN (5) vorgeschlagene Methode verwirklicht, nämlich die Zellen im Ausstrichpräparat als runde Zylinder mit der von RUHRMANN angegebenen Dicke von 1-2 µ aufzufassen (34). Dabei haben wir den Mittelwert der angegebenen Schwankungsbreite als Dicke, d. h. 1,5 µ, gewählt. Die Formel sieht dann folgendermaßen aus: $V = \pi \times r^2 \times 1{,}5$.

Damit wollten wir überprüfen, ob wir aus Schnittpräparaten

gewonnenen Ergebnissen näher kämen.

Bei LENNERT (28) findet man eine Zusammenfassung der bis dahin veröffentlichten Ergebnisse über Lymphozytenkernmessungen, deren mittlere Volumina wir in der Tabelle 3 aufgestellt haben:

Tabelle 3: Lymphozytenkernvolumina

		Jacobj	Heiberg	Okano	Popkes	Lennert/Remmele
Schnitt-Präparate	Normales Blut	36 μ^3	32 μ^3		31 μ^3 und 48 μ^3	17,8 $\pm$ 0,23 μ^3 u. 32,1 $\pm$ 0,13 μ^3
	CLL		62 μ^3	48 μ^3	48 μ^3	

	Klemola	Takepa und Nakai
Ausstrich-Präparat.	8 μ Ø = 256 μ^3; Bei Mononukleose: 12 μ Ø = 905 μ^3	5,82 μ Ø = 108 μ^3: in dünnen Ausstrichen. 7,64 μ ø = 224 μ^3: im Supravital-Präparat 9,26 μ Ø = 388 μ^3: in dicken Ausstrichen

LEIBETSEDER (25) gibt folgende Kerndurchmesser bzw. Kernvolumina für die Jacobj'schen Kernklassen, die in Ausstrichpräparaten gewonnen wurden, an:

Tabelle 4:

K 2:	12,60 μ und 1047,0 μ^3	K 1/4:	6,30 μ und 130,8 μ^3
K 1:	10,00 μ und 523,5 μ^3	K 1/8:	5,00 μ und 65,4 μ^3
K 1/2:	7,94 μ und 261,7 μ^3	K 1/16:	3,96 μ und 32,7 μ^3

Die Umrechnung unserer Meßergebnisse ergibt sich aus Tabelle 5:

Tabelle 5: Kerndurchmesser der Zellen in der Phytohämagglutinin-Kultur und ihre mit der Kugel- bzw. Zylinderformel umgerechneten Volumina:

Zellart	Mittlerer Durchmesser	Abgerundet	V_{Kugel}	$V_{Zylinder}$
Lymphozyten				
Normal:	6,24 µ	6,2 µ	125,0 μ^3	46,2 μ^3
CLL:	6,82 µ	6,8 µ	163,7 μ^3	54,5 μ^3
Virozyten	6,48 µ	6,5 µ	144,3 μ^3	49,8 μ^3
Stim. Ly.Zyten				
Normal:	6,48 µ	6,5 µ	144,3 μ^3	49,8 μ^3
CLL:	7,02 µ	7,0 µ	176,0 μ^3	57,8 μ^3
Lymphoidzellen				
Normal:	7,59 µ	7,6 µ	228,8 μ^3	69,3 μ^3
CLL:	8,32 µ	8,3 µ	299,2 μ^3	82,5 μ^3
Immunoblasten (alle)				
Normal:	8,51 µ	8,5 µ	321,2 μ^3	85,1 μ^3
CLL:	8,78 µ	8,8 µ	360,8 μ^3	92,4 μ^3
Vak. Immunobl.				
Normal:	9,57 µ	9,6 µ	462,9 μ^3	108,9 μ^3
CLL:	9,82 µ	9,8 µ	484,0 μ^3	112,2 μ^3
Retik.Zellen				
Normal:	10,80 µ	10,8 µ	660,0 μ^3	135,3 μ^3
CLL:	11,16 µ	11,2 µ	730,4 μ^3	147,8 μ^3
Neuentstand. Immunozyten und Lymphozyten				
Normal:	6,76 µ	6,8 µ	160,3 μ^3	53,8 μ^3
CLL:	7,49 µ	7,5 µ	220,8 μ^3	66,3 μ^3

Zuerst wollen wir zu den in Tabelle 1 angegebenen Meßergebnissen an Phytohämagglutinin-stimulierten Zellen (2, 11, 23, 29, 36, 37) Stellung nehmen (s. Tabelle 1, S. 7):
Die Kerngrößenangaben von AMBS (2) liegen weit höher als unsere. Den von ihm angegebenen kleineren Durchmesser der Zellen in CLL-Kulturen können wir nicht bestätigen, im Gegensatz, wir bekommen etwas größere Werte für die Zellen dieser Kulturen.
Die Ergebnisse der Kernmessungen von KNIGHT (23) an Staphylokokken-Filtrat-Kulturen stimmen mit unseren Werten ziemlich überein, auch der kleiner werdende Durchmesser nach 96-120 Std. unterstützt unsere Beobachtungen.

Die Zelldurchmesserwerte von TSUITSUI (36) sowie die von MARSHALL (29) könnten ebenfalls mit unseren Werten gut übereinstimmen, wenn man bedenkt, daß das Protoplasma den Kern meist in dem Umfang wenigstens des halben Kerndurchmessers umgibt.
Es ist schwieriger mit den Ergebnissen von YOFFEY (37) einen Vergleich zu ziehen, da diese auf keinen konkreten Messungen, sondern nur auf einer optischen Schätzung beruhen.

Die letzten drei genannten Autoren haben ihre Ergebnisse in Phytohämagglutinin-Kulturen erhalten. Interessant wäre noch der Vergleich unserer Werte mit denjenigen von CHESSIN (11) über Zelldiameter, die er in "pokeweed-mitogen"-Kulturen bekommen hat. Diese scheinen unsere Meßwerte auch zu unterstützen.

Wie die obenstehende Tabelle 5 zeigt, liegen unsere mit der

Kugelformel errechneten Lymphozytenkernvolumina weit höher als die der in Tabelle 3 besprochenen Autoren, die ihre Messungen in Schnittpräparaten gemacht haben. Mit den Messwerten aus Ausstrichpräparaten stimmen unsere Umrechnungen eher überein.

In neuester Zeit haben SCHNEIDER, THOM und GERHARTZ (35) Messungen an Lymphozyten durchgeführt. Sie geben das Volumen der kleinen Lymphozyten, die sie in frischem, vitalen Blut gewonnen haben, mit 155 μ^3, das der großen mit 180 μ^3 an. Diese Werte liegen etwas höher als die unserer Lymphozyten, da sie den Durchmesser der ganzen Zelle, wir nur des Kerns, bestimmt haben. Damit besteht für diese eine insofern überraschend gute Übereinstimmung, als die vitale Zelle im flüssigen Medium sicher ideal abgekugelt ist und wir damit annehmen müssen, daß die Lymphozyten auch auf unseren Ausstrichen als Kugel liegen bzw. die Quellung durch die Fixierung und die Färbung die Abflachung gerade wieder ausgleicht.

Mit der Zylinderformel bekommen wir Lymphozytenkernvolumina (Tabelle 5), die den aus Schnittpräparaten gewonnenen Volumina (Tabelle 3) näher stehen, obwohl sie immer noch höher liegen. Dies gilt besonders für die kleineren Volumina. Das Kernvolumen des Immunoblasten wäre eventuell mit dem von LENNERT/REMMELE (1958) angegebenen Volumen des mittleren Germinoblasten, das der Retikulumzelle mit dem der "Hauptklasse der großen Retikulumzellen" vergleichbar.

Aus diesen Feststellungen sind wir der Meinung, daß alle diese Meßmethoden keine absolut richtigen Werte ergeben.

Die von BODENSTEIN vorgeschlagene und hier zum ersten Mal

verwirklichte Umrechnung mit der Zylinderformel scheint uns jedenfalls weit realistischer als die mit der Kugelformel.

Es wäre vielleicht auch zu überlegen, ob es nicht richtiger sei, für die Lymphozyten bzw. kleinere Zellen die Kugelformel und für die größeren Zellen die Zylinderformel anzuwenden, da diese eine stärkere Abflachung als die kleineren erleiden.

Wenn wir versuchen, unsere Meßergebnisse mit den Angaben von LEIBETSEDER (25) bezüglich der Jacobj'schen Kernklassen zu vergleichen, so kommen wir zu folgenden Überlegungen:

Unsere Lymphozytenkerndurchmesser könnten die Kernklasse K 1/4 darstellen. Wie die Tabellen im Anhang zeigen, haben wir auch Lymphozyten gemessen, die der Klasse K 1/8 angehören. Die Kerndurchmesser der Virozyten sowie die der stimulierten Lymphozyten wären ebenfalls unter die Klasse K 1/4 einzuteilen. Die Lymphoidzellen sowie die kleineren Immunoblasten wären in die Klasse K 1/2, die größeren Immunoblasten, die vakuolisierten Immunoblasten und die kleineren Retikulumzellen in die Klasse K 1 und letztlich die größeren Retikulumzellen in die Klasse K 2 zu setzen.
Mit unseren Ergebnissen können wir die Angaben, daß aus den Immunoblasten wieder kleine Immunozyten, vielleicht auch Lymphozyten, hervorgehen können (8, 12, 14, 29, 36), bestätigen. Dadurch können wir die Überlegung von LENNERT (26), ob man Hinweise auf die Bildung andersartiger Zellen aus den Blasten finden könnte, nicht unterstützen. Bei den nach 120-168 Std. neugebildeten Immunozyten erkennen wir zwei verschiedene Arten:

a) Lymphozyten, die den Lymphozyten im 0-Std.-Präparat ähn-

lich sind (Versuch I: Abb. 3 und 4) und

b) Immunozyten, die den Immunoblasten ähnlich sind (Versuch I: Abb. 5).

Daß wir diese zwei verschiedene Arten sehen, könnte man vielleicht damit erklären, daß sie sich in zwei funktionell verschiedenen Zuständen befänden.

Die unter a) genannten Lymphozyten sind in den späteren Kulturausstrichpräparaten in stärkerem Maße vorhanden als in den früheren Kulturausstrichen, was die Annahme bekräftigt, daß aus den Immunoblasten Lymphozyten entstehen. Bevor diese Lymphozyten bzw. Immunozyten entstehen, teilen sich die großen Immunoblasten (12-13 µ) in kleinere (8,5-9 µ) und diese sich wiederum in kleine (7 µ), so daß wir in der Phytohämagglutinin-Kultur vier Generationen vermuten. MARSHALL und ROBERTS (29) vermuten im Laufe von 8 Tagen (192 Std.) 4-6, TSUTSUI (36) mindestens 4 Zellgenerationen, was wir damit unterstützen können.

Im Versuch I und auch angedeutet im Versuch III sehen wir eine weitere, interessante Erscheinung. Die neugebildeten Lymphozyten bzw. Immunozyten wandeln sich noch einmal in kleine und große Immunoblasten um, so daß man einen zweiten Wachstumsschub vermuten muß. Hierzu ist die Aussage von BRUCH (10) interessant, der feststellt, daß nach nochmaliger Zugabe von PHA nach 48 Std. die Transformationsfähigkeit nach 72 Std. in stärkerem Maße vorhanden ist und daß nach 120 Std. neugebildete Lymphozyten verstärkt auftreten. Dies könnte für die Züchtung der PHA-Kulturen bzw. für die medizinische Therapeutik eine große Bedeutung haben.

Die Tatsache, daß in unseren Kulturpräparaten viele Retikulumzellen entstanden und daß die Kerne der größeren Immuno-

blasten immer mehr ein retikuläres Aussehen annahmen, läßt vermuten, daß sie aus den Phytohämagglutinin-stimulierten Immunoblasten entstehen können, was bedeuten würde, daß sich der Lymphozyt bis zum Ausgangspunkt der Hämatopoese umwandeln könnte. Dieser Gedanke ist nicht neu. HEILMEYER (20) schreibt z. B. in seinem Lehrbuch der Hämatologie: "Lymphozyten oder lymphozytenähnliche Zellen scheinen auch als Stammzellen mit omnipotenten Fähigkeiten hinsichtlich der Blutzellbildung zu fungieren. Neuerdings, vor allem unter dem Einfluß neuer Untersuchungstechniken von REBUCK u. a., welche die direkte, zytologische Beobachtung von ins Entzündungsgebiet einwandernden Zellen gestatten, ist man geneigt, die alten Vorstellungen von MAXIMOW, wonach sich die emigrierten Lymphozyten in Monozyten, Epitheloidzellen oder sogar Fibroblasten umwandeln können, wieder anzuerkennen". Die Zukunft wird zeigen, ob sich diese Überlegungen auch manifestieren.

Die immer wieder in der Literatur zitierte Angabe (2, 4, 9, 24), daß bei der chronischen, lymphatischen Leukämie eine starke Verminderung der Transformationsfähigkeit vorliegt, können wir nicht bestätigen. Im Gegensatz, unsere zwei CLL-Kulturen verhielten sich mit guter Stimulierbarkeit der Lymphozyten wie die immunologisch normalen Kulturen. Dies war auch zu erwarten, da diese schon gute Stimulierbarkeit gezeigt hatten. BUSCHOFF (Diss. Berlin: in Vorbereitung) hat 17 CLL-Kulturen untersucht, wovon 5 gut auf PHA ansprachen, von denen wir unsere 2 CLL-Versuche entnommen und die vorliegenden Ergebnisse bekommen haben. Die Zellen der CLL-Ver-

suche zeigen im Ausgangspräparat einen etwas größeren Kerndurchmesser als die Zellen der Normal-Kulturen, was sich auch mit den Angaben von HEIBERG, OKANO und POPKES (Tabelle 3) für die Lymphozyten gut deckt.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden Kerndurchmesserbestimmungen an Phytohämagglutinin-stimulierten Zellen aus 3 "fast normalen" und 2 CLL-Blutproben bis zur 240. Std. durchgeführt. Das Ziel war, die Phytohämagglutinin-stimulierten Zellen mit Hilfe des Kerndurchmessers und der morphologischen Differenzierung zu klassifizieren.
In der 72. Std. kam es zur Umwandlung fast aller Lymphozyten in stimulierte Lymphozyten und Immunoblasten.
In allen 5 Versuchen konnten wir bestätigen, daß aus den Immunoblasten nach 120-168 Std. sich Immunozyten bzw. Lymphozyten entwickeln.

Vor deren Entstehung haben sich die großen Immunoblasten zweimal in kleine geteilt, so daß wir in der Phytohämagglutinin-Kultur 4 Zell g enerationen vermuten.
Die neugebildeten Lymphozyten stellen sich in zwei verschiedene Formen dar, einmal den kleinen Lymphozyten im 0-Std.-Präparat und zum anderen in der Kern- und Protoplasma-Struktur den großen Immunoblasten ähnlich, die wir deshalb als Immunozyten bezeichnet haben.
In einem Versuch konnten wir eine weitere, interessante Erscheinung festhalten. Die neugebildeten Lymphozyten bzw. Immunozyten entwickelten sich in einem 2. Wachstumsschub weiter zu kleinen und großen Immunoblasten, was eine multiple Evoluationsfähigkeit vermuten läßt.

Die Lymphozyten bei chronischer, lymphatischer Leukämie (CLL) verhielten sich bezüglich ihrer Transformationsfähig-

keit wie die normalen.

Die Entstehung großer Retikulumzellen warf die Frage auf, ob die Lymphozyten sich eventuell bis zum Ausgang des hämatopoetischen Systems entwickeln könnten.

Studie im Rahmen der Assoziation Haematologie EURATOM-GSF, Nr. 031-64-1 BIAD.

Die Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft unterstützt.

A N H A N G

S U M M E N K U R V E N

VERSUCH I

0. Std.:

5,0 µ	=	66	= 33,0 %
6,0 µ	=	106	= 53,0 %
7,0 µ	=	24	= 12,0 %
8,0 µ	=	4	= 2,0 %
		200	100,0 %

\+

Seg	362
Eos	8
Mon	30
	600

72., 120. und 144. Std.:

6,0 µ	=	105	= 4,5 %
7,0 µ	=	399	= 17,3 %
8,0 µ	=	695	= 30,2 %
9,0 µ	=	612	= 26,6 %
10,0 µ	=	277	= 12,1 %
11,0 µ	=	117	= 5,1 %
12,0 µ	=	54	= 2,3 %
13,0 µ	=	27	= 1,2 %
14,0 µ	=	14	= 0,6 %
15,0 µ	=	7	= 0,3 %
		2307	100,0 %

\+

Eos	18
	2325

168. Std.:

5,0 µ	=	98	= 17,6 %
6,0 µ	=	94	= 16,8 %
7,0 µ	=	156	= 27,6 %
8,0 µ	=	136	= 24,2 %
9,0 µ	=	54	= 9,7 %
10,0 µ	=	18	= 3,3 %

192. Std.

5,0 µ	=	32	= 15,7 %
6,0 µ	=	78	= 38,2 %
7,0 µ	=	56	= 27,4 %
8,0 µ	=	26	= 12,8 %
9,0 µ	=	8	= 3,9 %
10,0 µ	=	2	= 1,0 %
11,0 µ	=	2	= 1,0 %
		204	100,0 %

\+

Eos	4
Ret	2
	210

240. Std.:

6,0 µ	=	14	= 14,0 %
7,0 µ	=	20	= 20,0 %
8,0 µ	=	32	= 32,0 %
9,0 µ	=	20	= 20,0 %
10,0 µ	=	13	= 13,0 %
11,0 µ	=	1	= 1,0 %
		100	100,0 %

11,0 µ	=	2	= 0,4 %
12,0 µ	=	1	= 0,2 %
13,0 µ	=	1	= 0,2 %
		560	100,0 %

EINZELZELLKURVEN

VERSUCH I:

0. Std.:

Lymphozyten:

5,0 µ	= 82 =	39,0 %
6,0 µ	= 86 =	43,0 %
7,0 µ	= 8 =	4,0 %
	176	88,0 %

Lymphoidzellen:

6,0 µ	= 4 =	2,0 %
7,0 µ	= 10 =	5,0 %
8,0 µ	= 2 =	1,0 %
	16	8,0 %

Myelozyten:

5,0 µ	= 4 =	2,0 %
6,0 µ	= 16 =	8,0 %
7,0 µ	= 6 =	3,0 %
8,0 µ	= 2 =	1,0 %
	28	14,0 %

200	100,0 %

14,0 µ	= 8 =	1,3 %
15,0 µ	= 4 =	0,7 %
	71	12,0 %

605 100,0 %

72 Std.:

Lymphozyten:

6,0 µ	= 23 =	3,8 %
7,0 µ	= 5 =	0,8 %
	28	4,6 %

Stim. Lymphozyten:

6,0 µ	= 12 =	2,0 %
7,0 µ	= 64 =	10,6 %
	76	12,6 %

Immunoblasten:

7,0 µ	= 34 =	5,6 %
8,0 µ	= 154 =	25,4 %
9,0 µ	= 113 =	18,7 %
10,0 µ	= 44 =	7,2 %
11,0 µ	= 5 =	0,8 %
12,0 µ	= 3 =	0,5 %
	353	58,2 %

Immunobl. vac.:

8,0 µ	= 8 =	1,3 %
9,0 µ	= 19 =	3,1 %
10,0 µ	= 32 =	5,3 %
11,0 µ	= 6 =	1,0 %
12,0 µ	= 6 =	1,0 %
13,0 µ	= 2 =	0,3 %
14,0 µ	= 2 =	0,3 %
15,0 µ	= 2 =	0,3 %
	77	12,6 %

Retikulumzellen:

9,0 µ	= 12 =	2,0 %
10,0 µ	= 12 =	2,0 %
11,0 µ	= 12 =	2,0 %
12,0 µ	= 13 =	2,2 %
13,0 µ	= 10 =	1,7 %

Versuch I: Einzelzellkurven (Forts.):

120. Std.:

Lymphozyten:

6,0 µ	= 44 =	4,0 %
7,0 µ	= 6 =	0,5 %
	50	4,5 %

Immunoblasten:

6,0 µ	= 12 =	1,1 %
7,0 µ	=236 =	21,3 %
8,0 µ	=319 =	28,8 %
9,0 µ	=218 =	19,8 %
10,0 µ	= 78 =	7,0 %
11,0 µ	= 32 =	2,9 %
12,0 µ	= 9 =	0,8 %
13,0 µ	= 4 =	0,4 %
	908	82,1 %

Immunobl. vac.:

8,0 µ	= 11 =	1,0 %
9,0 µ	= 26 =	2,3 %
10,0 µ	= 21 =	1,9 %
11,0 µ	= 16 =	1,4 %
12,0 µ	= 5 =	0,5 %
13,0 µ	= 0 =	0,0 %
14,0 µ	= 2 =	0,2 %
	81	7,3 %

Retikulumzellen:

9,0 µ	= 9 =	0,8 %
10,0 µ	= 20 =	1,8 %
11,0 µ	= 16 =	1,4 %
12,0 µ	= 13 =	1,3 %
13,0 µ	= 9 =	0,8 %
14,0 µ	= 0 =	0,0 %
15,0 µ	= 1 =	0,1 %
	68	6,1 %
	1107	100,0 %
+		
Eos	13	
	1120	

144 Std.:

Lymphozyten:

6,0 µ	= 10 =	1,7 %
7,0 µ	= 10 =	1,7 %
	20	3,4 %

Immunoblasten:

6,0 µ	= 4 =	0,7 %
7,0 µ	= 44 =	7,4 %
8,0 µ	=195 =	32,7 %
9,0 µ	=190 =	32,0 %
10,0 µ	= 46 =	7,7 %
11,0 µ	= 13 =	2,2 %
12,0 µ	= 4 =	0,7 %
13,0 µ	= 2 =	0,3 %
14,0 µ	= 2 =	0,3 %
	500	84,0 %

Immunobl. vac.:

8,0 µ	= 8 =	1,3 %
9,0 µ	= 17 =	2,9 %
10,0 µ	= 17 =	2,9 %
11,0 µ	= 8 =	1,3 %
	50	8,4 %

Retikulumzellen:

9,0 µ	= 8 =	1,3 %
10,0 µ	= 7 =	1,2 %
11,0 µ	= 9 =	1,5 %
12,0 µ	= 1 =	0,2 %
	25	4,2 %
	595	100,0 %
+		
Eos	5	
	600	

Versuch I: Einzelzellkurven (Forts.):

168. Std.:

Immunoblasten:

5,0 µ	=	98	= 17,6 %
6,0 µ	=	94	= 16,8 %
7,0 µ	=	156	= 27,6 %
8,0 µ	=	136	= 24,2 %
9,0 µ	=	54	= 9,7 %
10,0 µ	=	18	= 3,3 %
11,0 µ	=	2	= 0,4 %
12,0 µ	=	1	= 0,2 %
13,0 µ	=	1	= 0,2 %
		560	100,0 %

192. Std.:

Immunoblasten:

5,0 µ	=	32	= 15,7 %
6,0 µ	=	78	= 38,2 %
7,0 µ	=	56	= 27,4 %
8,0 µ	=	26	= 12,8 %
9,0 µ	=	8	= 3,9 %
10,0 µ	=	2	= 1,0 %
11,0 µ	=	2	= 1,0 %
		204	100,0 %

\+

Eos	4
Ret	2
	210

240. Std.:

Immunoblasten:

6,0 µ	=	14	= 14,0 %
7,0 µ	=	20	= 20,0 %
8,0 µ	=	32	= 32,0 %
9,0 µ	=	20	= 20,0 %
10,0 µ	=	13	= 13,0 %
11,0 µ	=	1	= 1,0 %
		100	100,0 %

S U M M E N K U R V E N

VERSUCH II

0. Std.:

5,0 µ	=	12	= 9,9 %
6,0 µ	=	59	= 48,4 %
7,0 µ	=	26	= 21,2 %
8,0 µ	=	15	= 12,3 %
9,0 µ	=	10	= 8,2 %
		122	100,0 %

+

Seg	153
Baso	5
Eos	2
Mono	5
Prom	1
Viro	12
	300

72. und 120. Std.:

5,0 µ	=	30	= 3,0 %
6,0 µ	=	84	= 8,3 %
7,0 µ	=	166	= 16,4 %
8,0 µ	=	220	= 21,8 %
9,0 µ	=	214	= 21,2 %
10,0 µ	=	152	= 15,0 %
11,0 µ	=	80	= 7,9 %
12,0 µ	=	30	= 3,0 %
13,0 µ	=	20	= 2,0 %
14,0 µ	=	10	= 1,0 %
15,0 µ	=	0	= 0,0 %
16,0 µ	=	2	= 0,2 %
17,0 µ	=	0	= 0,0 %
18,0 µ	=	2	= 0,2 %
		1010	100,0 %

168. Std.:

5,0 µ	=	46	= 46,0 %
6,0 µ	=	27	= 27,0 %
7,0 µ	=	16	= 16,0 %
8,0 µ	=	6	= 6,0 %
9,0 µ	=	5	= 5,0 %
		100	100,0 %

E I N Z E L Z E L L K U R V E N

VERSUCH II

0. Std.:

Lymphozyten:

5,0 µ	= 11	= 9,0 %	
6,0 µ	= 59	= 48,4 %	
7,0 µ	= 21	= 17,2 %	
8,0 µ	= 10	= 8,2 %	
9,0 µ	= 2	= 1,6 %	
	122	84,4 %	

Lymphoidzellen:

5,0 µ	= 1	= 0,8 %	
6,0 µ	= 0	= 0,0 %	
7,0 µ	= 5	= 4,1 %	
8,0 µ	= 5	= 4,1 %	
9,0 µ	= 8	= 6,6 %	
	19	15,6 %	

141 100,0 %

72. Std.:

Lymphozyten:

5,0 µ	= 2	= 0,3 %	
6,0 µ	= 6	= 1,0 %	
7,0 µ	= 4	= 0,7 %	
	12	2,0 %	

Stim. Lymphozyten:

5,0 µ	= 12	= 2,0 %	
6,0 µ	= 34	= 5,7 %	
7,0 µ	= 26	= 4,3 %	
8,0 µ	= 2	= 0,3 %	
	74	12,3 %	

Immunoblasten:

6,0 µ	= 4	= 0,7 %	
7,0 µ	= 66	= 11,0 %	
8,0 µ	= 92	= 15,3 %	
9,0 µ	= 74	= 12,3 %	
10,0 µ	= 36	= 6,0 %	
11,0 µ	= 14	= 2,3 %	
12,0 µ	= 4	= 0,3 %	
	290	48,3 %	

Immunobl. vac.:

7,0 µ	= 10	= 1,7 %	
8,0 µ	= 34	= 5,7 %	
9,0 µ	= 44	= 7,3 %	
10,0 µ	= 46	= 7,7 %	
11,0 µ	= 16	= 2,7 %	
12,0 µ	= 4	= 0,7 %	
13,0 µ	= 4	= 0,7 %	
14,0 µ	= 2	= 0,3 %	
	160	26,8 %	

Retikulumzellen:

8,0 µ	= 2	= 0,3 %	
9,0 µ	= 10	= 1,7 %	
10,0 µ	= 12	= 2,0 %	
11,0 µ	= 14	= 2,3 %	
12,0 µ	= 8	= 1,3 %	
13,0 µ	= 10	= 1,7 %	
14,0 µ	= 4	= 0,7 %	
15,0 µ	= 0	= 0,0 %	
16,0 µ	= 2	= 0,3 %	
17,0 µ	= 0	= 0,0 %	
18,0 µ	= 2	= 0,3 %	
	64	10,6 %	

600 100,0 %

Versuch II: Einzelzellkurven (Forts.):

120. Std.:

Lymphozyten:

5,0 µ	= 16	= 3,9	%
6,0 µ	= 32	= 7,8	%
7,0 µ	= 8	= 1,9	%
	56	13,6	%

Stim. Lymphozyten:

6,0 µ	= 8	= 1,9	%
7,0 µ	= 4	= 1,0	%
	12	2,9	%

Immunoblasten:

7,0 µ	= 44	= 10,7	%
8,0 µ	= 86	= 21,0	%
9,0 µ	= 72	= 17,5	%
10,0 µ	= 34	= 8,3	%
11,0 µ	= 18	= 4,4	%
12,0 µ	= 8	= 2,0	%
13,0 µ	= 4	= 1,0	%
	266	64,9	%

Immunobl. vac.:

7,0 µ	= 4	= 1,0	%
8,0 µ	= 2	= 0,5	%
9,0 µ	= 10	= 2,4	%
10,0 µ	= 14	= 3,4	%
11,0 µ	= 10	= 2,4	%
12,0 µ	= 4	= 1,0	%
13,0 µ	= 0	= 0,0	%
14,0 µ	= 2	= 0,5	%
	46	11,2	%

Retikulumzellen:

8,0 µ	= 2	= 0,5	%
9,0 µ	= 4	= 1,0	%
10,0 µ	= 10	= 2,4	%
11,0 µ	= 8	= 2,0	%
12,0 µ	= 2	= 0,5	%
13,0 µ	= 2	= 0,5	%
14,0 µ	= 2	= 0,5	%
	30	7,4	%

410	100,0	%

168. Std.:

Immunoblasten:

5,0 µ	= 46	= 46,0	%
6,0 µ	= 27	= 27,0	%
7,0 µ	= 16	= 16,0	%
8,0 µ	= 6	= 6,0	%
9,0 µ	= 5	= 5,0	%
	100	100,0	%

SUMMENKURVEN

VERSUCH III

0. Std.:

5,0 µ	= 8	= 3,1	%
6,0 µ	= 66	= 25,8	%
7,0 µ	=112	= 43,7	%
8,0 µ	= 64	= 25,0	%
9,0 µ	= 6	= 2,4	%
	256	100,0	%

\+

Seg	36
Eos	1
Mono	6
Prom	1
	300

72. und 120. Std.:

5,0 µ	= 10	= 2,5	%
6,0 µ	= 88	= 22,0	%
7,0 µ	= 84	= 21,0	%
8,0 µ	= 89	= 22,2	%
9,0 µ	= 63	= 15,8	%
10,0 µ	= 36	= 9,0	%
11,0 µ	= 13	= 3,2	%
12,0 µ	= 10	= 2,5	%
13,0 µ	= 7	= 1,8	%
	400	100,0	%

168. Std.:

5,0 µ	= 4	= 1,3	%
6,0 µ	= 16	= 5,4	%
7,0 µ	= 34	= 11,4	%
8,0 µ	= 46	= 15,4	%
9,0 µ	= 74	= 24,6	%
10,0 µ	= 44	= 14,7	%
11,0 µ	= 13	= 4,3	%
12,0 µ	= 38	= 12,6	%
13,0 µ	= 18	= 6,0	%
14,0 µ	= 9	= 3,0	%
15,0 µ	= 4	= 1,3	%
	300	100,0	%

E I N Z E L Z E L L K U R V E N

VERSUCH III3

0. Std.:

Lymphozyten:

5,0 µ	= 8	= 3,1	%
6,0 µ	= 63	= 24,6	%
7,0 µ	= 85	= 33,2	%
	156	60,9	%

Lymphoidzellen:

7,0 µ	= 17	= 6,6	%
8,0 µ	= 64	= 25,0	%
9,0 µ	= 6	= 2,4	%
	87	34,0	%

Virozyten:

6,0 µ	= 3	= 1,2	%
7,0 µ	= 10	= 3,9	%
	13	5,1	%

256	100,0 %

72. Std.:

Stim. Lymphozyten:

6,0 µ	= 20	= 20,0	%
7,0 µ	= 6	= 6,0	%
	26	26,0	%

Immunoblasten:

7,0 µ	= 7	= 7,0	%
8,0 µ	= 30	= 30,0	%
9,0 µ	= 12	= 12,0	%
10,0 µ	= 5	= 5,0	%
	54	54,0	%

Retikulumzellen:

9,0 µ	= 6	= 6,0	%
10,0 µ	= 2	= 2,0	%
11,0 µ	= 5	= 5,0	%
12,0 µ	= 3	= 3,0	%
13,0 µ	= 4	= 4,0	%
	20	20,0	%

100	100,0 %

120. Std.:

Immunoblasten:

5,0 µ	= 10	= 3,3	%
6,0 µ	= 68	= 22,7	%
7,0 µ	= 66	= 22,0	%
8,0 µ	= 47	= 15,6	%
9,0 µ	= 31	= 10,4	%
10,0 µ	= 11	= 3,7	%
11,0 µ	= 4	= 1,3	%
12,0 µ	= 5	= 1,7	%
13,0 µ	= 3	= 1,0	%
	245	81,7	%

Immunobl. vac.:

7,0 µ	= 5	= 1,7	%
8,0 µ	= 9	= 3,0	%
9,0 µ	= 7	= 2,3	%
10,0 µ	= 8	= 2,7	%
11,0 µ	= 1	= 0,3	%
12,0 µ	= 2	= 0,7	%
	32	10,7	%

Retikulumzellen:

8,0 µ	= 3	= 1,0	%
9,0 µ	= 7	= 2,3	%
10,0 µ	= 10	= 3,3	%
11,0 µ	= 3	= 1,0	%
	23	7,6	%

300	100,0 %

Versuch III: Einzelzellkurven (Forts.):

168. Std.:

Immunoblasten:

5,0 µ	=	4	= 1,3 %
6,0 µ	=	16	= 5,3 %
7,0 µ	=	34	= 11,4 %
8,0 µ	=	38	= 12,7 %
9,0 µ	=	32	= 10,7 %
10,0 µ	=	18	= 6,0 %
11,0 µ	=	3	= 1,0 %
12,0 µ	=	14	= 4,7 %
13,0 µ	=	9	= 3,0 %
14,0 µ	=	3	= 1,0 %
		171	57,1 %

Immunobl. vac.:

8,0 µ	=	8	= 2,7 %
9,0 µ	=	22	= 7,3 %
10,0 µ	=	10	= 3,3 %
11,0 µ	=	0	= 0,0 %
12,0 µ	=	8	= 2,7 %
		48	16,0 %

Retikulumzellen:

9,0 µ	=	20	= 6,7 %
10,0 µ	=	16	= 5,3 %
11,0 µ	=	10	= 3,3 %
12,0 µ	=	16	= 5,3 %
13,0 µ	=	9	= 3,0 %
14,0 µ	=	6	= 2,0 %
15,0 µ	=	4	= 1,3 %
		81	26,9 %

300	100,0 %

S U M M E N K U R V E N

VERSUCH IV

0. Std.:

6,0 µ	= 6	= 2,6	%
7,0 µ	= 53	= 23,3	%
8,0 µ	=111	= 49,0	%
9,0 µ	= 37	= 16,3	%
10,0 µ	= 20	= 8,8	%
	227	100,0	%

\+

Seg	61
Eos	1
Mono	9
Prom	2
	300

72. und 120. Std.:

7,0 µ	= 21	= 4,2	%
8,0 µ	= 83	= 16,6	%
9,0 µ	=167	= 33,4	%
10,0 µ	= 96	= 19,2	%
11,0 µ	= 70	= 14,0	%
12,0 µ	= 37	= 7,4	%
13,0 µ	= 18	= 3,6	%
14,0 µ	= 6	= 1,2	%
15,0 µ	= 2	= 0,4	%
	500	100,0	%

168. Std.:

6,0 µ	= 5	= 2,5	%
7,0 µ	= 72	= 36,0	%
8,0 µ	= 38	= 19,0	%
9,0 µ	= 40	= 20,0	%
10,0 µ	= 20	= 10,0	%
11,0 µ	= 12	= 6,0	%
12,0 µ	= 8	= 4,0	%
13,0 µ	= 5	= 2,5	%
	200	100,0	%

E I N Z E L Z E LL K U R V E N

VERSUCH IV

0. Std.:

Lymphozyten:

6,0 µ	= 6	= 2,6 %
7,0 µ	= 46	= 20,1 %
8,0 µ	= 7	= 3,1 %
	59	25,8 %

Lymphoidzellen:

7,0 µ	= 7	= 3,1 %
8,0 µ	=105	= 46,1 %
9,0 µ	= 37	= 16,2 %
10,0 µ	= 20	= 8,8 %
	169	74,2 %

228 100,0 %

72. Std.:

Lymphozyten:

7,0 µ	= 8	= 8,0 %

Stim. Lymphozyten:

7,0 µ	= 5	= 5,0 %
8,0 µ	= 9	= 9,0 %
	14	14,0 %

Immunoblasten:

8,0 µ	= 6	= 6,0 %
9,0 µ	= 15	= 15,0 %
10,0 µ	= 5	= 5,0 %
11,0 µ	= 7	= 7,0 %
	33	33,0 %

Immunobl. vac.:

9,0 µ	= 5	= 5,0 %
10,0 µ	= 0	= 0,0 %
11,0 µ	= 3	= 3,0 %
12,0 µ	= 3	= 3,0 %
	11	11,0 %

Retikulumzellen:

9,0 µ	= 5	= 5,0 %
10,0 µ	= 13	= 13,0 %
11,0 µ	= 6	= 6,0 %
12,0 µ	= 4	= 4,0 %
13,0 µ	= 6	= 6,0 %
	34	34,0 %

100 100,0 %

120. Std.:

Lymphozyten:

7,0 µ	= 8	= 2,0 %

Immunoblasten:

8,0 µ	= 62	= 15,5 %
9,0 µ	=100	= 25,0 %
10,0 µ	= 44	= 11,0 %
11,0 µ	= 26	= 6,5 %
12,0 µ	= 6	= 1,5 %
	238	59,5 %

Immunobl. vac.:

8,0 µ	= 4	= 1,0 %
9,0 µ	= 32	= 8,0 %
10,0 µ	= 22	= 5,5 %
11,0 µ	= 4	= 1,0 %
12,0 µ	= 6	= 1,5 %
13,0 µ	= 2	= 0,5 %
	70	17,5 %

Versuch IV: Einzelzellkurven (Forts.):

120. Std. (Forts.):

Retikulumzellen:

8,0 µ	= 2	= 0,5	%
9,0 µ	= 10	= 2,5	%
10,0 µ	= 12	= 3,0	%
11,0 µ	= 24	= 6,0	%
12,0 µ	= 18	= 4,5	%
13,0 µ	= 10	= 2,5	%
14,0 µ	= 6	= 1,5	%
15,0 µ	= 2	= 0,5	%
	84	21,0	%
	400	100,0	%

168. Std.:

Immunoblasten:

6,0 µ	= 5	= 2,5	%
7,0 µ	= 72	= 36,0	%
8,0 µ	= 38	= 19,0	%
9,0 µ	= 33	= 16,5	%
10,0 µ	= 15	= 7,5	%
11,0 µ	= 8	= 4,0	%
	171	85,5	%

Immunobl. vac.:

9,0 µ	= 3	= 1,5	%
10,0 µ	= 5	= 2,5	%
	8	4,0	%

Retikulumzellen:

9,0 µ	= 4	= 2,0	%
10,0 µ	= 0	= 0,0	%
11,0 µ	= 4	= 2,0	%
12,0 µ	= 8	= 4,0	%
13,0 µ	= 5	= 2,5	%
	21	10,5	%
	200	100,0	%

S U M M E N K U R V E N

VERSUCH V

0. Std.:

5,0 µ	=	1	= 0,5 %
6,0 µ	=	65	= 29,3 %
7,0 µ	=	98	= 44,4 %
8,0 µ	=	44	= 19,9 %
9,0 µ	=	10	= 4,5 %
10,0 µ	=	3	= 1,4 %
		221	100,0 %

+

Seg	75
Baso	1
Eos	4
Mono	1
Prom	3
	305

72. Std.:

6,0 µ	=	102	= 17,0 %
7,0 µ	=	140	= 23,4 %
8,0 µ	=	138	= 23,0 %
9,0 µ	=	124	= 20,7 %
10,0 µ	=	42	= 7,0 %
11,0 µ	=	40	= 6,7 %
12,0 µ	=	10	= 1,6 %
13,0 µ	=	2	= 0,3 %
14,0 µ	=	0	= 0,0 %
15,0 µ	=	2	= 0,3 %
		600	100,0 %

144 Std.:

5,0 µ	=	54	= 27,0 %
6,0 µ	=	36	= 18,0 %
7,0 µ	=	26	= 13,0 %
8,0 µ	=	16	= 8,0 %
9,0 µ	=	16	= 8,0 %
10,0 µ	=	16	= 8,0 %
11,0 µ	=	20	= 10,0 %
12,0 µ	=	10	= 5,0 %
13,0 µ	=	2	= 1,0 %
14,0 µ	=	2	= 1,0 %
15,0 µ	=	0	= 0,0 %
16,0 µ	=	2	= 1,0 %
		200	100,0 %

E I N Z E L Z E L L K U R V E N

VERSUCH V

0. Std.:

Lymphozyten:

5,0 µ	=	1	= 0,5 %
6,0 µ	=	64	= 29,2 %
7,0 µ	=	90	= 41,0 %
8,0 µ	=	32	= 14,6 %
9,0 µ	=	2	= 0,9 %
		189	86,2 %

Lymphoidzellen:

7,0 µ	=	7	= 3,2 %
8,0 µ	=	12	= 5,5 %
9,0 µ	=	8	= 3,7 %
10,0 µ	=	3	= 1,4 %
		30	13,8 %

219	100,0 %

72. Std.:

Lymphozyten:

6,0 µ	=	14	= 2,3 %
7,0 µ	=	10	= 1,7 %
		24	4,0 %

Stim. Lymphozyten:

6,0 µ	=	82	= 13,7 %
7,0 µ	=	44	= 7,3 %
8,0 µ	=	4	= 0,7 %
		130	21,7 %

Immunoblasten:

6,0 µ	=	6	= 1,3 %
7,0 µ	=	86	= 14,4 %
8,0 µ	=	124	= 20,7 %
9,0 µ	=	80	= 13,4 %
10,0 µ	=	20	= 3,3 %
11,0 µ	=	24	= 4,0 %
		340	56,8 %

Immunobl. vac.:

8,0 µ	=	8	= 1,3 %
9,0 µ	=	24	= 4,0 %
10,0 µ	=	6	= 1,0 %
11,0 µ	=	2	= 0,3 %
		40	6,6 %

Retikulumzellen:

8,0 µ	=	2	= 0,3 %
9,0 µ	=	20	= 3,3 %
10,0 µ	=	16	= 2,7 %
11,0 µ	=	14	= 2,3 %
12,0 µ	=	10	= 1,7 %
13,0 µ	=	2	= 0,3 %
14,0 µ	=	0	= 0,0 %
15,0 µ	=	2	= 0,3 %
		66	10,9 %

600	100,0 %

Versuch V: Einzelzellkurven (Forts.):

144. Std.:

Immunoblasten:

5,0 µ	= 54	= 27,0	%
6,0 µ	= 36	= 18,0	%
7,0 µ	= 26	= 13,0	%
8,0 µ	= 16	= 8,0	%
9,0 µ	= 12	= 6,0	%
10,0 µ	= 10	= 5,0	%
11,0 µ	= 12	= 6,0	%
12,0 µ	= 4	= 2,0	%
	170	85,0	%

Immunobl. vac.:

9,0 µ	= 2	= 1,0	%
10,0 µ	= 4	= 2,0	%
11,0 µ	= 2	= 1,0	%
12,0 µ	= 2	= 1,0	%
	10	5,0	%

Retikulumzellen:

9,0 µ	= 2	= 1,0	%
10,0 µ	= 2	= 1,0	%
11,0 µ	= 6	= 3,0	%
12,0 µ	= 4	= 2,0	%
13,0 µ	= 2	= 1,0	%
14,0 µ	= 2	= 1,0	%
15,0 µ	= 0	= 0,0	%
16,0 µ	= 2	= 1,0	%
	20	10,0	%

	200	100,0 %

Literaturverzeichnis

1. Ambs, E.: Die Lymphozytenkultur und ihre Beziehung zu klinischen Problemen. Klin. Wschr. 15, 789 (1969).

2. Ambs, E., Chesebro, J. und Lagerlöf, B.: Zur Darstellung der Transformationsfähigkeit von Lymphozytenkulturen bei verschiedenen Erkrankungen mittels Feulgen-Zytophotometrie. Acta haemat. 41, 276 (1969).

3. Astaldi, G., Costa, G. und Airð, R.: Phytohaemagglutinin in leukaemia. Lancet 1965 I, 1394.

4. Begemann, H.: Klinische und experimentelle Beobachtungen an immunisierten Lymphknoten. Freiburg: H. F. Schulz 1953.

5. Bodenstein, H.: Karyometrische Untersuchungen im Schnittpräparat des normalen menschlichen Knochenmarks. Blut XX, 137 (1970).

6. Boll, I.: Granulocytopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966.

7. Boll, I.: Bewegungsstudien an nicht stimulierten und stimulierten Lymphozyten sowie Retothelsarkomzellen. Sonderdruck aus Leukozytenkulturen, Verhandlungsbericht der 2. Arbeitstagung über Leukozytenkulturen, Essen 1970. Hrsg.: G. Brittinger und H. J. Roggenbach. F. K. Schattauer-Verlag, Stuttgart - New York 1971, S. 19.

8. Boll, I., Kretschmer, V. und Fliedner, T. M.: Kinematographische Dokumentation einer amitotischen Zellteilung. Zschr. f. Zellforschung 83, 1 (1967).

9. Bouroncle, B., Clausen, K. P. und Aschenbrand, J. F.: Studies of the delayed response of phytohaemagglutinin (PHA) stimulated lymphocytes in 25 chronic lymphatic leukemia patients before and during therapy. Blood 34, 166 (1969).

10. Bruch, C.: Kinetics of lymphocyte transformation in relation to the duration of exposure to phytohaemagglutinin (PHA) in vitro. First Meeting European Division International Society Haematology, Milano 10.-12. September 1971.

11. Chessin, L. N., Börjeson, J.: Welsh, P. D., Douglas, S. D. und Cooper, H. L.: Studies on human peripheral blood lymphocytes in vitro. II. Morphological and biochemical Studies on the transformation of lymphocytes by pokeweed mitogen. J. Exptl. Med. 124, 873 (1966).

12. Cooper, E. H.: Lymphocytes in culture. Brit. J. Haemat. 304 (1964).

13. Dameshek, W.: "Immunoblasts" and "Immunocytes" - an attempt at a functional nomenclature. Blood 21, 234 (1963).

14. Elves, E. W., and Wilkinson, J. F.: Effects of phytohaemagglutinin on the morphology of cultured leucocytes. Nature (Lond.) 194, 1257 (1962).

15. Gebauer, Chr.: Erythroblasten- und Megaloblastenkerngrößen in Ausstrichen von Knochenmarkkulturen. Diss. Berlin 1970.

16. Gowans, J. L., McGregor, D. D., Cowen, D. M., and Ford, C. E.: Initiation of immune responses by small lymphocytes. Nature 196, 651 (1962).

17. Gowans, J. L., and McGregor, D. D.: The immunological activities of lymphocytes. Progr. Allergy 9, 1 (1965).

18. Gropp, A. und Fischer, R.: Ergebnisse der Züchtung von Lymphozyten in vitro. Klin. Wschr. 12, 665 (1966).

19. Gropp, A. und Fischer, R.: Untersuchungen zur Phytohämagglutinin-stimulierten Umwandlung von menschlichen Blutlymphozyten zu blastenartigen Zellen. Virchows Arch. path. Anat. 338, 64 (1964).

20. Heilmeyer, L .: Praktische Hämatologie, 5. Auflage (1966).

21. Jacobj, W.: Über das rhythmische Wachstum der Zellen durch Verdoppelung ihres Volumens. Arch. Entw.mech. Organ. 106, 124 (1925).

22. Jacobj, W.: Die Zellkerngröße beim Menschen. Ein Beitrag zur quantitativen Zytologie. Zschr. mikrosk.-anat. Forsch. 38, 161 (1935).

23. Knight, S., Ling, N. R., Sell, S., and Oxnard, C. E.: The transformation in vitro of peripheral lymphocytes of some laboratory animals. Immunology 9, 565 (1965).

24. König, E., Cohnen, G., Aberle, H. G. und Brittinger, G.: Lysosomale Enzyme in Lymphozyten. Acta haemat. 44, 265 (1970).

25. Leibetseder, F.: Erythropoese und Zellkerngröße. Wien. Zschr. inn. Med. 29, 397 (1948).

26. Lennert, K.: Bildung und Differenzierung der Blutzellen, insbesondere der Lymphozyten. Verhdlg. d. dtsch. Gesellsch. f. Pathologie, 50. Tagung, Heidelberg 1966, S. 163.

27. Lennert, K.: Lymphknoten. Zytologie und Lymphadenitis. Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie, Bd. I/3, Bandteil A, Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1961.

28. Lennert, K. und Remmele, W.: Karyometrische Untersuchungen an Lymphknotenzellen des Menschen. Acta haemat. 19, 99, 139 und 301 (1958).

29. Marshall, W. H., and Roberts, K. B.: Continous cinematography of human lymphocytes cultured with a phytohaemagglutinin including observations on cell division and interphase. Quart. J. exp. Physiol. 50, 361 (1965).

30. Maximow, A.: Der Lymphozyt als gemeinsame Stammzelle der verschiedenen Blutelemente in der Entwicklung und im postfetalen Leben der Säugetiere. Fol. haemat. (Loz.) 8, 125 (1909).

31. Movat, Z., and Fernando, N. V.: The fine structure of the lymphoid tissue during antibody formation. Exp. molec. Path. 4, 155 (1965).

32. Piechl, N.: Beiträge zur Knochenmarkforschung; Versuch über die Lösbarkeit der Zellen der einzelnen Systeme aus dem Markverband. Z. Klin. Med. 141, 788 (1942).

33. Robbins, J. H.: Tissue culture studies of human lymphocytes. Experiments under controlled conditions provide new information on this cell's function and potentiality. Science 146, 1648 (1964).

34. Ruhrmann, G.: Morphologische Untersuchungen über die Erythropoese des Neugeborenen und des Säuglings. Z. Ges. Exp. Med. 140, 319 (1966).

35. Schneider, J., Thom, R., and Gerhartz, H.: Cell volume analysis on normal and abnormal lymphocytes. First Meeting European Division

International Society Haematology, Milano
10.-12. September 1971.

36. Tsutsui, I.: A concept on Lymphogonia (Immunoblasts) based on the origin and fate of Phytohaemagglutinin-induced blast cells from human peripheral blood in vitro.
I. Cellular kinetics.
II. A model of Phytohaemagglutinin-induced lymphocytopoiesis in vitro.
III. A phase-contrast-microscopic study.
Acta haemat. Jap. 30, 865 (1967).

37. Yoffey, J. M., Winter, G. C. B., Osmond, D. G., and Meek, E. S.: Morphological studies in the culture of human leucocytes with phytohaemagglutinin.
Brit. J. Haemat. 11, 488 (1965).

Mein aufrichtiger Dank gilt Frau Professor Dr. med. I. BOLL für die Überlassung des Themas, sowie für ihre bereitwillige Hilfe bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

Auch einen herzlichen Dank sage ich Herrn Professor Dr. rer. nat. H. J. BELITZ am Institut für Genetik an der Freien Universität Berlin für seine großzügige Hilfe bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse.

L e b e n s l a u f

Ich bin am 24.12.1947 als das ältere von zwei Kindern des Taxifahrers Jónas Jónsson und dessen Frau Adalheidur, geb. Pêtursdóttir, in Reykjavik geboren.

Dort besuchte ich die Volks- und Mittelschule und nach bestandener Aufnahmeprüfung für die Oberschule von 1963 bis 1967 das Reykjaviker Gymnasium, wo ich im Juni 1967 die Reifeprüfung der mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät abgelegt habe.

Im Wintersemester 1967 habe ich mit dem Studium der Zahnmedizin an der Freien Universität Berlin angefangen und dort bestand ich 1970 das Physikum. Nach abgeschlossenem Studium, ebenfalls an der Freien Universität Berlin, bestand ich im Dezember 1972 das zahnmedizinische Staatsexamen.

Am 30. März 1968 habe ich geheiratet.

Jón Jónasson